

Aus der I. Medizinischen Klinik der Freien Universität Berlin
im Städtischen Krankenhaus Westend

Direktor: Professor Dr.med.Dr.sc.h.c.Dr.med.vet.h.c.Dr.med.h.c.

Hans Freiherr v. K r e ß

D a s V e r h a l t e n d e r L i p i d e
i n E r y t h r o z y t e n b e i
H ä m o b l a s t o s e n d e s M e n s c h e n

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

T h o m a s L e n n e r t

aus Stettin

1969



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der I. Medizinischen Klinik der Freien Universität Berlin
im Städtischen Krankenhaus Westend

Direktor: Professor Dr.med.Dr.sc.h.c.Dr.med.vet.h.c.Dr.med.h.c.
Hans Freiherr v. K r e ß

D a s V e r h a l t e n d e r L i p i d e
i n E r y t h r o z y t e n b e i
H ä m o b l a s t o s e n d e s M e n s c h e n

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

T h o m a s L e n n e r t

aus Stettin

Dekan: Professor Dr. med. Hans Heinz Naumann

Referent: Professor Dr.med. Peter K ö r t g e

Korreferent: Professor Dr. med. Dr. rer. nat. Heinz Tiedemann



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Freien Universität Berlin

Promoviert am: 20.3.1969

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1- 8
II. Material und Methodik	9-19
A. Auswahl des Untersuchungsmaterials	
B. Technik der Blutentnahme	
C. Extraktion der Erythrozyten-Lipide	
D. Extraktion der Serum-Lipide	
E. Bestimmung der Gesamtlipide in Erythrozyten und Serum	
F. Bestimmung der Phospholipide in Erythrozyten und Serum	
G. Bestimmung des Cholesterins in Erythrozyten und Serum	
H. Berechnung der Neutralfette	
I. Weitere Auftrennung der Erythrozyten-Phospholipide mit Hilfe der Säulen-chromatographie	
J. Identifizierung der säulenchromato-graphisch gewonnenen Phospholipid-fraktionen mit Hilfe der Papier-chromatographie	
K. Statistische Auswertung	
III. Ergebnisse	20-23
IV. Diskussion der Ergebnisse	24-28
V. Zusammenfassung	29-30
Anhang	
Verzeichnis der Fälle	31-35
Einzelwerte	35
Literaturverzeichnis	36-48
Lebenslauf	49

I. Einleitung

Seit WOOLDRIDGE 1881 erstmals im hämoglobinfreien Stroma der roten Blutkörperchen eine ätherlösliche Fraktion als Cholesterin und eine alkohollösliche Fraktion als Lecithin identifizierte, fanden die Lipide als strukturbildende Bestandteile der Erythrozyten in zunehmendem Maße das Interesse nicht nur der allgemeinen Fettstoffwechselforschung, sondern ebenso auch der klinischen Hämatologie. Des weiteren zeigte sich, daß die rote Blutzelle in hervorragendem Maße geeignet war, als Modell für die Erforschung biologischer Membranen zu dienen.

BÜRGER und BEUMER konnten 1913 in Hammel- und Menschenerythrozyten neben Lecithin, das sie nur in geringer Menge fanden, vor allem Sphingomyelin und auch Kephalin nachweisen. Von denselben Autoren (BEUMER und BÜRGER, 1913) stammt auch der erste Hinweis, daß Cholesterin in Erythrozyten nur in freier, nicht veresterter Form vorkommt, ein Befund, der trotz einiger gegenteiliger Berichte (BOYD, 1936 a; FOLDES and MURPHY, 1946; LONDON und SCHWARZ, 1953; HANAHAN et al., 1960) inzwischen als gesichert gelten kann (HAGERMAN und GOULD, 1951; MUNN 1958; REED et al., 1960; de GIER und van DEENEN, 1961; WEED und REED, 1966; NELSON, 1967 a).

In der Arbeit von BEUMER und BÜRGER finden sich darüber hinaus erste Hinweise auf Lipidkonzentrationen in Erythrozyten unter pathologischen Bedingungen. Dabei ist interessant, daß die Autoren zwar bei Carcinom-Kranken keine Abweichung von der Norm feststellen konnten, bei Leukämie jedoch eine

Erniedrigung des Cholesteringehalts auf weniger als die Hälfte des Normalwertes bei gleichzeitig unveränderten Phospholipidwerten fanden.

So auffällig diese Befunde auch sind, es ist dabei zu berücksichtigen, daß quantitative Untersuchungen auf dem Lipidsektor in der damaligen Zeit aus methodischen Gründen noch erheblichen Fehlerquellen ausgesetzt waren. Erst die Einführung chromatographischer Techniken führte dazu, daß eine nahezu exakte quantitative Bestimmung und Differenzierung der Erythrozyten-Lipide möglich wurde. Wurde zunächst zur Auftrennung in erster Linie die Säulenchromatographie benutzt (BORGSTRÖM, 1952; HANAHAN et al., 1957; HIRSCH und AHRENS, 1958; ZÖLLNER und KIRSCH, 1960), so führte die Einführung der Papierchromatographie auf mit Kieselgel imprägniertem Papier durch MARINETTI und Mitarbeiter (1956, 1957) zu einer erheblichen methodischen Bereicherung und Verfeinerung. Ein weiterer bedeutender Fortschritt zeigte sich dann in der Einführung gaschromatographischer Methoden zur Fettsäurenanalyse, der Dünnschichtchromatographie und der Verwendung von Isotopen zur Lipidanalyse in Form von Autoradiogrammen und Aktivitätsmessungen bei Austauschvorgängen.

Mit Hilfe dieser Methoden gelang es, eine Fülle von Einzelaspekten des Fettstoffwechsels der roten Blutkörperchen unter gesunden und krankhaften Bedingungen aufzuklären. Nachdem ERICKSON et al. schon 1938 Normalwerte für Gesamtlipide, Cholesterin und Phospholipide in menschlichen Erythrozyten veröffentlicht hatten und BRUN 1939 noch einmal isoliert den Cholesteringehalt untersucht hatte, war die Arbeit von

HAGERMAN und GOULD (1951) besonders bahnbrechend. Die Autoren konnten mit Hilfe von C^{14} -markiertem Cholesterin nachweisen, daß ein ständiger rapider Austausch zwischen freiem Plasmacholesterin und Erythrozytencholesterin stattfindet, während das Estercholesterin an diesem Austausch nicht teilnimmt, weshalb es auch in Erythrozyten nicht gefunden wird. Dieser Befund mußte, wie PEZOLD (1961) betont, sehr überraschen, war doch von vielen Autoren übereinstimmend festgestellt worden, daß die häufigen physiologischen und pathologischen Schwankungen der Plasmacholesterinkonzentration nicht von entsprechenden Veränderungen der Erythrozytencholesterinkonzentration begleitet wurden, sondern daß der Gehalt an Cholesterin in den Erythrozyten überwiegend konstant blieb (BÜRGER, 1928; BOYD, 1934; BOYD und CONNELL, 1936; RUBIN, 1939; MYERS et al., 1957).

Die Befunde von HAGERMAN und GOULD konnten von anderen Autoren inzwischen bestätigt werden (LONDON und SCHWARZ, 1953; RUHENSTROTH-BAUER, 1953; MUNN, 1958; MURPHY, 1962), darüber hinaus konnten LONDON und SCHWARZ mit $1-C^{14}$ -Natriumacetat und Deuteriumoxyd zeigen, daß eine Cholesterineigensynthese in Erythrozyten nicht stattfindet.

In der Folgezeit ließ sich mit Hilfe von P^{32} zeigen, daß analog zu den Vorgängen beim Cholesterin zwischen Plasma und Erythrozyten auch ein ständiger Austausch von Phospholipiden stattfindet, an dem alle Fraktionen beteiligt sind mit Ausnahme des Serin-Kephalins, das zwar in den Erythrozyten, nicht aber im Plasma vorkommt (REED, 1959; POLONOVSKI und PAYSANT, 1963; SAKAGAMI, 1965; CROWLEY et al., 1965; WEED

und REED, 1966). Gleichzeitig gelang es, den Syntheseort der Blutlipide mit einiger Sicherheit zu bestimmen. War anfangs noch angenommen worden, daß der reife Erythrozyt in begrenztem Maße an der Lipidsynthese beteiligt ist (ROWE, 1959), so ließ sich bald zeigen, daß der Hauptort für die Lipidsynthese im Blut der Leukozyt ist. Daneben sind mit etwa 25 - 30 % der Gesamtlipidsynthese die Thrombozyten beteiligt und in geringem Maße auch die unreifen Erythrozyten in Form von Reticulozyten. Im reifen Erythrozyten findet keine Lipidsynthese statt, anderslautende Befunde sind mit Sicherheit durch unscharfe Trennung der Zellfraktionen bedingt (BUCHANAN, 1960; MARKS et al., 1960; ROWE et al., 1960). In diesem Zusammenhang erscheint die Überlegung von ROWE (1960) bedeutungsvoll, daß die Lebensfähigkeit von Erythrozyten, die ja in hohem Maße von intakten Lipidstrukturen abhängig ist, beeinflußt werden könnte durch die jeweils vorhandene oder gestörte Fähigkeit der Leukozyten zur Lipidsynthese, und zwar auf dem Umwege über Austauschvorgänge zwischen Plasma und Blutzellen. Diese Hypothese aber führt direkt in das Gebiet, dem die vorliegende Arbeit gewidmet ist.

Nachdem die normale Zusammensetzung der Erythrozytenlipide einschließlich der Verteilung der einzelnen Phospholipidfraktionen als hinlänglich gesichert angesehen werden konnte (REED et al, 1960; PHILLIPS und ROOME, 1959, 1962; KATES et al., 1961; DODGE et al., 1963; WESTERMAN et al., 1963; WAYS und HANAHAN, 1964; CROWLEY et al., 1965; van GASTEL et al., 1965), und auch Vergleiche mit den Lipidwerten verschiedener Tierspezies angestellt worden waren (YAMAKAWA und SUZUKI,

1951; KLENK und LAUENSTEIN, 1952; YAMAKAWA und SUZUKI, 1953; MATSUMOTO, 1956; HANAHAN et al., 1960; de GIER und van DEENEN, 1961; WATSON, 1963; NELSON, 1967 a und b), boten sich zahlreiche Krankheitsbilder zur Untersuchung der Erythrozyten-Lipide an. So liegen inzwischen entsprechende Arbeiten vor über die hereditäre Sphärozytose (KATES et al., 1961; PHILLIPS und ROOME, 1962; de GIER et al., 1964; ROBERTSON und LANDS, 1964; BRADLOW et al., 1965; REED und SWISHER, 1966), die Thalassämie (PHILIPPS und ROOME, 1962; NICOLOPOULOS et al., 1966), die paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie (HARRIS et al., 1957; FORMIJNE et al., 1957; BARRY, 1959; BRADLOW et al., 1965), die perniziöse Anämie (WILLIAMS et al., 1937; PHILIPPS und ROOME, 1962), die Niemann-Pick'sche Krankheit (BALINT et al., 1951), das Zieve-Syndrom (GADRAT et al., 1967), den Glucose -6-Phosphat-Dehydrogenase-Mangel (SZEINBERG et al., 1965) und das seltene Krankheitsbild der Akanthozytose (PHILIPPS, 1962; WAYS et al., 1963; HOOGHWINKEL, 1964). Dabei zeigte sich, daß unter den Krankheiten, die mit Formveränderungen der roten Blutkörperchen einhergehen, nur die Thalassämie und die Akanthozytose eindeutige Veränderungen der Lipidwerte aufweisen. Bei allen anderen Erkrankungen fanden sich, nachdem zunächst ebenfalls veränderte Werte berichtet worden waren, bei Kontrollen keine Abweichungen vom Normalen. Bezeichnender Weise aber konnte inzwischen nachgewiesen werden, daß bei der Akanthozytose, einer Erkrankung, die, 1950 von BASSEN und KORNZWEIG erstmals beschrieben, mit Steatorrhoe, atypischer Retinitis pigmentosa, fortschreitenden neurologischen Ausfällen und einer auffälligen stachel förmigen Verän-

derung der Erythrozyten einhergeht, der primäre Defekt in einem Mangel beziehungsweise Fehlen von Beta-Lipoprotein im Plasma und der Dünndarmmucosa besteht. Entsprechend findet sich eine erhebliche Verschiebung in der Zusammensetzung der einzelnen Plasma-Lipide, die sich dann sekundär auf die Erythrozyten auswirkt.

Bei der Thalassämie scheint die übereinstimmend berichtete Vermehrung der Gesamtlipide in den Erythrozyten (PHILIPPS und ROOME, 1962; NICOLOPOULOS et al., 1966) ebenfalls sekundär eine Folge der starken Zunahme unreifer Erythrozyten zu sein, die, wie oben erwähnt, imstande sind, Lipide zu synthetisieren. Diese Befunde unterstreichen die These von PHILIPPS und ROOME (1962), daß es bisher nicht gelungen ist, Veränderungen in der Zusammensetzung der Erythrozyten-Lipide, speziell der Phospholipide, ursächlich für Formveränderungen der Zellmembran verantwortlich zu machen, sodaß nach anderen Mechanismen gesucht werden muß.

Andererseits konnten mehrere Untersucher übereinstimmend feststellen, daß der Lipidgehalt der roten Blutzelle mit zunehmendem Zellalter abnimmt, wobei alle Fraktionen gleichmäßig betroffen sind (RADERECHT et al., 1960; WESTERMAN et al., 1963; van GASTEL et al., 1965; CROWLEY et al., 1965).

Daß dieser Befund nicht allein dadurch zu erklären ist, daß mit zunehmendem Zellalter die Zahl der noch zur Lipidsynthese fähigen Retikulozyten abnimmt, geht aus der Tatsache hervor, daß auch in Blutkonserven der Lipidgehalt der Zellen mit der Zeit abnimmt (REED et al., 1958; RIMON et al., 1965).

Eine andere Erklärung wäre, daß aus der Membran der alternden

Zelle lipidhaltige Bestandteile verlorengelassen, was zu einer Permeabilitätsänderung führen könnte. Das wiederum könnte als Ursache für Veränderungen der Zellform angenommen werden, die eine Verkürzung der Lebensdauer der Zelle bedingen (WESTERMAN et al., 1963).

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit Wechselbeziehungen zwischen Erythrozyten und Erkrankungen, die vorwiegend die weiße Blutzellreihe betreffen. Es ist daher erforderlich, auch Untersuchungen an Leukozyten-Lipiden zu beachten. Die methodische Schwierigkeit, die die Isolierung der zahlenmäßig wesentlich geringeren Leukozyten mit sich bringt, zeigt sich in der spärlichen Zahl der bisher vorliegenden Veröffentlichungen. Erste Angaben machte BOYD (1936 b), neuere Untersuchungen existieren von POLLI und RATTI (1953), LAMBERS und EGGSTEIN (1959), KIDSON (1961), MALAMOS et al., (1962), SCHWANDT et al., (1967), GOTTFRIED (1967). Da, wie oben erwähnt, die Lipidsynthese im menschlichen Blut in erster Linie in den Leukozyten stattfindet, enthalten die weißen Blutzellen erheblich mehr Lipide als die roten Zellen. Darüber hinaus ist der Phospholipidanteil deutlich auf Kosten des Cholesterins vermehrt. Gleichzeitig aber ergeben sich starke Variationen je nach Zellart. Während bei den Erythrozyten nur die unreifen Zellen über eine Lipid-Synthese-Leistung verfügen, ist diese Leistung bei den unreifen (stabkernigen) Leukozyten geringer als bei den reifen (segmentkernigen). Unabhängig von diesen altersabhängigen Schwankungen der Lipid-Synthese soll es nach KIDSON (1961) zu einer gesteiger-

ten Synthese bei der myeloischen Leukämie und zu einer herabgesetzten Synthese bei der lymphatischen Leukämie kommen. Der letztere Befund deckt sich mit Beobachtungen von BOYD (1936 b) und POLLI und RATTI (1953), die bei der chronischen lymphatischen Leukämie in den Leukozyten eine Verminderung der Gesamtlipide und Phospholipide fanden. Andererseits kommen LAMBERS und EGGSTEIN (1959) wie auch GOTTFRIED (1967) zu teilweise entgegengesetzten Ergebnissen.

In der vorliegenden Arbeit soll das Verhalten der Erythrozyten-Lipide unter krankhaften Bedingungen, die in erster Linie die lymphatische und myeloische Zellreihe sowie das retikulo-histiozytäre System betreffen, untersucht werden. Dazu werden die Konzentration und die prozentuale Verteilung der Lipide in den Erythrozyten bei der lymphatischen und myeloischen Leukämie und bei der Lymphogranulomatose (Morbus Hodgkin) geprüft. Zum Vergleich wird neben einer hämatologisch gesunden Kontrollgruppe ein Fall von Thalassämie in die Untersuchung mit einbezogen.

II. Material und Methodik

A. Auswahl des Untersuchungsmaterials

Zur Untersuchung kommen je 20 ml Nüchternblut von 6 Kontrollfällen (3 Gesunde, 3 Ulcus-Patienten), 5 Fällen von lymphatischer Leukämie, 4 Fällen von myeloischer Leukämie, 6 Fällen von Lymphogranulomatose und 1 Fall von Thalassämia minor. Alle Patienten sind unbehandelt, das heißt sie haben in den letzten drei Monaten vor der Blutentnahme keine Bluttransfusionen, keine Corticosteroide und keine Cytostatica erhalten. Es ist darauf geachtet worden, daß bei keinem der Fälle eine ausgeprägte Anämie bestand, um eine möglicherweise anämiebedingte Verfälschung der Werte auszuschließen. Ein Fall von lymphatischer Leukämie mit einem Hämoglobingehalt von 5,6 mg/100 ml, 2,02 Millionen Erythrozyten und einem Hämatokrit von 25,0% wird zwar mituntersucht, die Werte werden jedoch nicht in der Statistik verwendet.

B. Technik der Blutentnahme

Das Blut wird mittels üblicher Injektionskanülen und -spritzen, deren Wände unmittelbar vor der Blutabnahme mit Liquemin[®] (ROCHE) benetzt werden, aus der gestauten Cubitalvene entnommen. Die Weiterverarbeitung erfolgte in jedem Falle am gleichen Tag, frühestens nach Abkühlung des Blutes auf Zimmertemperatur, spätestens nach einigen Stunden Aufbewahrung im Kühlschrank bei +4° C. Der in Chloroform-Methanol gelöste Gesamtlipidextrakt wurde in drei Fällen bei -18° C

unter Stickstoffatmosphäre in der Kühltruhe mehrere Wochen bis zur Weiterverarbeitung aufbewahrt, ohne daß Veränderungen festgestellt werden konnten.

Die von HANAHAN und Mitarbeitern 1960 mitgeteilte Beobachtung, daß Heparin im Unterschied zu anderen gerinnungshemmenden Substanzen wie Natriumcitrat, ACD oder EDTA artefizielle Veränderungen besonders in der Kephalin-Fraktorbewirke, konnte von anderen Untersuchern nicht bestätigt werden (SZEINBERG et al., 1965; DODGE und PHILLIPS, 1966), so daß keine Bedenken bestanden, das auch von weiteren Autoren (PHILLIPS und ROOME, 1959; WATSON, 1963; NICOLOPOULOS et al., 1966; NELSON, 1967 b) benutzte Heparin zu verwenden.

C. Extraktion der Erythrozyten-Lipide

Reagenzien: NaCl-Lösung 0,9 %
Methanol, p.a., wasserfrei (E. MERCK AG Darmstadt)
Chloroform, p.a. "
Schwefelsäure, 0,05 % "
Natriumsulfat, p.a. wasserfrei "

Die Methode folgt den Angaben von WATSON (1963), der wiederum von einer Methode von BRAGDON (1960) zur Extraktion von Gewebslipiden ausgeht:

Das Blut wird 10 min mit 2000 U/min zentrifugiert, anschließend das Plasma und möglichst die gesamte Leukozytenschicht abpipettiert. Die Erythrozyten werden zweimal in gleichen Volumina isotoner NaCl-Lösung gewaschen und wieder durch Zentrifugieren getrennt. Genau 2 ml der isolierten Erythrozyten werden in ein 60 ml-Zentrifugenglas gebracht und 1 Stunde in 16 ml Methanol extrahiert. Nach Zufügen von 32 ml Chloroform wird das Glas mehrmals geschüttelt und über Nacht auf der Seite liegen gelassen. Am nächsten Morgen werden 10 ml 0,05 %ige Schwefelsäure hinzugefügt, das Glas mehrmals vorsichtig geschüttelt und anschließend für 20 min bei 1500 U/min zentrifugiert. Die untere oder Chloroform-Phase wird dann mit Hilfe einer Spritze und einer langen Kanüle entnommen, durch entfettete Watte gefiltert und über Natriumsulfat wasserfrei gemacht (Zentrifugieren, 10 min bei 3000 U/min.). Der Extrakt wird in einen 50 ml - Meßkolben übertragen und bis zur Marke mit Chloroform-Methanol 2:1 (vol/vol) aufgefüllt. Hieraus werden dann 10 ml entnommen zur Gesamtlipid-Bestimmung und anschließenden Cholesterin- und Phospholipid-

bestimmung. Weitere 25 ml werden zur chromatographischen Auftrennung der Phospholipide verwendet. Sämtliche Arbeitsgänge werden bei Raumtemperatur durchgeführt, die Extraktion wie auch die weiteren Analysen werden in Doppelbestimmung ausgeführt.

D. Extraktion der Serum-Lipide

Reagenzien: Chloroform p.a. (E. MERCK AG Darmstadt)
Methanol p.a. "

Waschflüssigkeit: 481 ml Chloroform-Methanol 2:1 (vol/vol) und 119 ml einer wässrigen CaCl_2 -Lösung (20 mg CaCl_2 in 100 ml) werden im Scheidetrichter 2 min kräftig geschüttelt, stehen gelassen, bis die obere Phase klar ist. Die untere Phase wird entfernt, die obere ist die Waschflüssigkeit.

Prinzip: Es wird nach der Methode von SPERRY (1955) vorgegangen, wobei in dem durch mehrmaliges scharfes Zentrifugieren von allen corpusculären Bestandteilen gereinigten Serum das Eiweiß durch Chloroform-Methanol 2:1 (vol/vol) gefällt wird, der Extrakt durch Wasserwäsche gereinigt, nach dem Eindampfen wieder gelöst, Eiweiß- und andere unlösliche Reste abfiltriert und schließlich der gereinigte Extrakt zur gravimetrischen Gesamtlipidbestimmung und zur Phosphatidbestimmung weiterverwendet wird.

E. Bestimmung der Gesamtlipide in Erythrozyten und Serum

Von den jeweils gewonnenen Lipidextrakten wird ein konstantes Volumen entnommen, in vorher getrocknete und gewogene Meßkölbchen überführt, unter Stickstoff bei $+50^{\circ}\text{C}$ zur Trockne gebracht, über Nacht im Ölpumpenvakuum in einem Exsiccator stehen gelassen und am nächsten Tag auf einer Halbmikrowaage gewogen. Anschließend wird der Rückstand erneut in Chloroform gelöst und zur Phospholipidbestimmung verwendet.

F. Bestimmung der Phospholipide in Erythrozyten und Serum

Reagenzien: Wasserstoffsuperoxyd (P-frei), 30 %
("Perhydrol" p.a.)
Schwefelsäure p.a.
Wäßrige Ammoniummolybdatlösung, 0,22 %
1-Amino-2-naphthol-4-sulfonsäure
Natriumsulfit p.a., wasserfrei
Wäßrige Natriumbisulfitlösung, 15 %, p.a.
(hergestellt aus Natriumdisulfit p.a.
und aqua dest.)
Salzsäure, konz., p.a.

Sämtliche Reagenzien: E. MERCK AG Darmstadt

Da man das durchschnittliche Molekulargewicht der Phosphatide mit 790 annehmen kann, läßt sich nach Veraschung des Lipidextraktes und anschließender Bestimmung des Phosphors der Phospholipidgehalt durch Multiplikation mit dem Faktor 25 errechnen (WELLER, 1962). Voraussetzung dafür ist das Ausschalten von Verunreinigungen durch anorganischen Phosphor.

Zur Bestimmung des Phosphors im Gesamtlipidextrakt von Erythrozyten und Serum wie auch in den säulenchromatographisch gewonnenen Lipidfraktionen wird die Methode von BARTLETT (1959) benutzt. Diese Methode zeichnet sich gegenüber der bei der Bestimmung der Serumphospholipide erprobten Methode von MARTIN und DOTY (1949) dadurch aus, daß sie noch bei Phosphormengen unter 5 Gamma empfindlich reagiert und außerdem die gleichzeitige Bestimmung einer großen Zahl von Proben ermöglicht. Sie stellt eine Modifikation der klassischen Methode von FISKE und SUBBAROW (1925) dar.

Prinzip: Veraschung der Lipidlösung mit 10n Schwefelsäure 3-4 Stunden bei + 150° C, Vervollständigung der Veraschung mit 30%igem Wasserstoffsuperoxyd erneut für 1 1/2 - 2 Stunden bei + 150° C. Nach Abkühlung Zufügen von 0,22%iger Ammoniummolybdatlösung und Fiske-Subbarow-Reagenz (bestehend aus einer frisch hergestellten Lösung aus 15%iger Natriumbisulfitlösung, 1-Amino-2-naphthol-4-sulfonsäure und wasserfreiem Natriumsulfit).

Das Gemisch wird gut durchgeschüttelt und 7 Minuten in einem siedenden Wasserbad erhitzt. Nach dem Abkühlen wird die Extinktion des gebildeten Farbstoffes bei 830 nm mit einem Spektralphotometer in 1 cm-Küvetten gegen eine Leerprobe gemessen, oder auch, wie in der vorliegenden Arbeit, bei 691 nm Hg in einem Filterphotometer (EPPENDORF) in 2 cm-Küvetten. Die Phosphorwerte werden mit Hilfe einer Eichkurve ermittelt.

G. Bestimmung des Cholesterins in Erythrozyten und Serum

Reagenzien: Aceton p.a.

Aethanol p.a.

Aether puriss. pro narcosi (BONZ & Sohn)

Digitoninlösung 0,5 % in 50%igem Aethanol

Natrium-methylat 5 % (Na metallisch, p.a.
Methanol p.a.)

Verd. Salzsäure (25 ml konz. HCl, p.a. ad 100 ml
mit aqua dest. verdünnen)

Kaliumchloridlösung (10 g Kaliumhydroxyd in etwa
20 ml H₂O lösen, mit der verd.
HCl unter Zusatz von Phenoph-
thalein neutralisieren)

Eisessig p.a., frisch redestilliert

Essigsäureanhydrid p.a., frisch redest.

Schwefelsäure, konz., p.a.

Phenolphthalein

Sämtliche Reagenzien, soweit nicht anders angegeben,:

E. MERCK AG Darmstadt.

Zur Cholesterin-Bestimmung wurde die Methode von SCHÖNHEIMER und SPERRY (1934) verwendet. Nachdem in Voruntersuchungen festgestellt worden war, daß bei der Serum-Cholesterinanalyse die Ausbeute bei Verwendung des Gesamtlipidextraktes stets geringer war als bei der Bestimmung unmittelbar aus dem Serum, wird das letztere Verfahren vorgezogen und ausschließlich angewendet.

Das Serum wird zunächst mit Alkohol-Aceton 1:1 (vol/vol) gefällt, aufgeköcht und filtriert. Von dem Filtrat werden aliquote Mengen jeweils zur Bestimmung von Gesamt- und freiem Cholesterin in Zentrifugengläschen gegeben. Entsprechend werden vom Erythrozytenlipidextrakt gleiche Teile entnommen, das Chloroform bei +50°C unter Stickstoff verdampft, der Rückstand in Alkohol-Aceton 1:1 gelöst. Die weitere Verarbeitung erfolgt für Erythrozyten und Serum gleichartig, allerdings wurde im Verlauf der Untersuchungen auf die Verseifung des Erythrozytenansatzes häufig verzichtet, da sich in Übereinstimmung mit der Literatur in den Erythrozyten kein verestertes Cholesterin nachweisen ließ.

Zur Verseifung werden die Gläschen mit Natrium-methylat versetzt und eine Stunde im Sandbad bei $+50^{\circ}\text{C}$ gehalten. Danach erfolgt die Neutralisierung mit Salzsäure unter Zusatz von Phenolphthalein. Die verseiften und die unverseiften Ansätze werden mit alkoholischer Digitoninlösung über Nacht gefällt. Nach Zentrifugieren und Absaugen des Überstandes wird der Rückstand zunächst mit Aceton-Aether 1:2 (vol/vol), nach erneuter Trennung mit Aether gewaschen, anschließend wieder durch Absaugen und Verdampfen im Wasserbad bei $+60^{\circ}\text{C}$ von den letzten Lösungsmittelresten befreit.

Der Niederschlag wird unter Erwärmen auf $+60-70^{\circ}\text{C}$ im Sandbad in 2 ml Eisessig gelöst. Nach Abkühlen werden in jedes Gläschen 2 ml Essigsäureanhydrid und 0,1 ml konz. Schwefelsäure gegeben, umgerührt und jedes Gläschen genau 100 min bei $+18-20^{\circ}\text{C}$ im Dunkeln stehen gelassen. Danach wird die Extinktion des entstandenen Farbtönen im Eppendorf-Photometer mit Filter 623 nm Hg bei 1 cm Schichtdicke gegen ein Kompensationsgemisch von Eisessig-Essigsäureanhydrid-Schwefelsäure abgelesen. Die entsprechenden Cholesterinwerte werden mittels einer Eichkurve bestimmt.

H. Berechnung der Neutralfette

a) in den Erythrozyten:

Da in den Erythrozyten nur unverestertes Cholesterin vorkommt, ergibt sich folgende Berechnung (WELLER, 1962):
Neutralfette = Gesamtlipide minus Cholesterin minus Phospholipide.

b) im Serum:

Zur Berechnung der Neutralfette müssen zunächst die Cholesterinester ermittelt werden (WELLER, 1962):
Gesamtcholesterin minus Freies Cholesterin
= Estercholesterin.
Estercholesterin $\times 1,68$ = Cholesterinester.
Daraus ergibt sich für die Berechnung der Neutralfette:
Neutralfette = Gesamtlipide minus Freies Cholesterin
minus Cholesterinester minus Phospholipide.

I. Weitere Auftrennung der Erythrozyten-Phospholipide mit Hilfe der Säulenchromatographie

Methode: nach KANAHAN et al. (1957), MARINETTI et al. (1957)
HIRSCH und AHRENS (1958), ZÖLLNER und KIRSCH (196c),
WATSON (1963).

Reagenzien und Hilfsmittel:

Kieselgel MALLINCKRODT 100 mesh
"suitable for chromatographic analysis"
(Fa. SERVA Entwicklungslabor, Heidelberg)
Hyflo-Supercel Filterhilfe
(Fa. SERVA Entwicklungslabor, Heidelberg)
Chloroform p.a. (E. MERCK AG Darmstadt)
Methanol, p.a., wasserfrei (E. MERCK AG Darmstadt)
Chromatographierohr (Glas) mit angesetztem Normal-
schliff 29/32, Länge 200 mm, lichte Weite 15 mm
Vorratsgefäß für Lösungsmittel (250 ml) mit NS 29/32
Fraktionssammler mit Volumensteuerung (Siphon)
Modell "RadiRac" Nr. 3400 B
(Fa. LKB, Stockholm)
Reinstickstoff (Fa. OSRAM, Berlin)

Sämtliche Glaswaren werden ausschließlich in Chromschwefelsäure gereinigt. Die Elution findet bei Raumtemperatur statt (+23°C.)

4 g Kieselgel und 2 g Hyflo-Supercel werden sorgfältig gemischt, mit Chloroform zu einem dickflüssigen Brei angerührt und in die am unteren Ende durch einen durchlöchernten Glasboden, eine Filterpapierscheibe ("Blauband", Fa. SCHLEICHER & SCHÜLL) und Glaswolle abgedichtete Säule eingeschlämmt. Unter Stickstoffdruck von 20 cm Wassersäule sedimentieren lassen, anschließend Waschen der Säule mit 50 ml Chloroform, 50 ml Methanol und wiederum 50 ml Chloroform. Gleichzeitig werden 25 ml des Erythrozyten-Lipidextrakts unter Stickstoff bei +50°C im Wasserbad zur Trockne gebracht und erneut in etwa 2 ml Chloroform gelöst. Wenn der Flüssigkeitsspiegel über der Säulenfüllung noch etwa 0,5 cm beträgt, vorsichtiges tropfenweises Auftragen des Lipidextraktes mit einer Pipette, ohne daß die Säulenoberfläche aufgewirbelt wird. Elution mit 50 ml Chloroform zum Auswaschen der nichtphosphorhaltigen Lipide. Dann Anschließen der Säule an den Fraktionssammler, weitere Elution mit 60 ml Chloroform-Methanol 4:1, 130 ml Chloroform-Methanol 3:2, 70 ml Chloroform-Methanol 2:3 und 70 ml Methanol (Mischungsverhältnisse jeweils vol/vol.) Es werden Fraktionen von jeweils 5 ml aufgefangen. Aus jeder Fraktion werden 2 ml zur Phosphorbestimmung nach BARTLETT entnommen, der Rest wird bei -18°C aufbewahrt. Nach erfolgter Phosphorbestimmung und Anlegen einer Elutionskurve werden alle zu einem Kurven-Peak gehörenden Röhrchen zusammengeworfen.

J. Identifizierung der säulenchromatographisch gewonnenen Phospholipidfraktionen mit Hilfe der Papierchromatographie

Methode: nach MARINETTI (1962; s. auch MARINETTI et al., 1956; 1957; 1958; 1959; THIELE und BERGMANN, 1957; HACK und FERRANS, 1959; HACK und LEATHERMAN, 1961; THIELE und WOBER, 1961).

Reagenzien und Hilfsmittel:

Di-isobutylketon (FLUKA AG Buchs/Schweiz)
Eisessig p.a.
Kieselgelpapier (SCHLEICHER & SCHÜLL Nr. 289)
0,01%ige wäßrige Rhodamin-B-Lösung
0,25%ige Lösung von Ninhydrin in Aceton-Lutidin 9:1
1%ige wäßrige Phosphormolybdänsäurelösung
1%ige Lösung von Zinn (II)-chlorid in 3n Salzsäure
2,4-Dinitrophenylhydrazin (150mg in 100 ml 3 n HCl)
Bromthymolblau (50 mg + 1,25 g Borsäure in
8ml 1n NaOH und 112ml H₂O)

Schiff'sches Reagenz

Reinsubstanzen:

Lecithin (Fa. NATTERMANN)

Lysolecithin (Fa. NATTERMANN)

Sphingomyelin (bovine, B - grade, CALBIOCHEM)

Phosphatidyl Ethanolamine (A - grade, CALBIOCHEM)

Vakuum-Rotationsverdampfer ROTAVAPOR (BÜCHI)

Chromatographie-Trog (Höhe 34 cm, Ø 23 cm)

UV-Lampe FLUOTEST (Quarzlampen Ges. Hanau)

Reagenzien, soweit nicht anders angegeben,: E. MERCK AG
Darmstadt

Es wird aufsteigend bei Raumtemperatur (+23°C) chromatographiert.

Die den Kurven-Peaks entsprechend vereinigten Eluate der Säulenchromatographie werden im Vakuum-Rotationsverdampfer zunächst auf ein Volumen von jeweils etwa 10 ml eingengt, anschließend im Reagenzglas unter Stickstoff zur Trockne gebracht. Der Rückstand wird in 0,2 ml Chloroform gelöst. Der aus der ursprünglichen Erythrozyten-Extraktion noch vorhandene Rest an Gesamtlipidextrakt wird ebenso behandelt und zum Vergleich bei der Papierchromatographie mitlaufen gelassen.

Auf einem 21 x 50 cm großen Kieselgelpapierbogen werden entlang einer 3 cm vom unteren Rand entfernten Linie bis zu 18 Startflecke im gegenseitigen Abstand von 2,5 cm markiert. Je 0,02 - 0,1 ml der Phospholipidlösung, entsprechend 1 - 3 Gamma Lipidphosphor, werden auf die einzelnen Startpunkte mit einer Blutzuckerpipette langsam unter Föhntrocknung aufgetragen. Dabei beträgt der Durchmesser der Startflecke nicht mehr als 0,5 cm. Das Papier wird zu einem Zylinder zusammengerollt und vernäht. Dabei ist zu beachten, daß sich die Enden nicht gegenseitig berühren. Der Zylinder wird in ein Chromatographiegefäß gestellt, in dem sich 100 ml einer frisch bereiteten Mischung aus Di-isobutylketon, Eisessig und Wasser im Verhältnis 40:20:3 befinden. Auf eine Vorsättigung des Papiers ist verzichtet worden, da hiermit in Voruntersuchungen keine Vorteile erzielt wurden. Die Laufzeit beträgt jeweils etwa 2 Stunden. Von MARINETTI wird bei gleicher Temperatur eine Laufzeit von 3 1/2 - 4 1/2 Stunden angegeben. Sie ist möglicherweise auf eine andere Qualität des von ihm selbst mit Kieselgel imprägnierten Papiers zurückzuführen. Die fertigen Chromatogramme werden eine Stunde unter dem Abzug getrocknet und dann wie folgt gefärbt:

a) Anfärbung mit Rhodamin-B für alle Phospholipide (MARINETTI et al., 1957)

Eintauchen der trockenen Chromatogramme für 2 - 3 Minuten in eine 0,01%ige wässrige Lösung von Rhodamin B. Nach dem Auswaschen des überflüssigen Farbstoffes mit aqua dest. werden die noch feuchten Chromatogramme unter einer UV-Lampe (366 nm) betrachtet. Lecithin, Lysolecithin, Sphingomyelin und Colaminkephalin erscheinen als gelb-orange Flecken, Serinkephalin und Inositolphospholipide als bläuliche Flecken.

b) Anfärbung mit Bromthymolblau für alle Phospholipide (THIELE und WOBER, 1961)

Eintauchen oder Ansprachen der trockenen Chromatogramme mit Bromthymolblaulösung. Die Phospholipide erscheinen gelb auf blauem Grund. Da der Farbton sehr unbeständig war und keine sehr homogene Anfärbung erzielt werden konnte, wurde diese Färbung zugunsten a) aufgegeben.

c) Anfärbung mit Ninhydrin auf aminogruppenhaltige Phospholipide (MARINETTI 1962)

Die trockenen Chromatogramme werden in eine 0,25%ige Lösung von Ninhydrin in Aceton-Lutidin 9:1 getaucht. Die Papiere werden einige Stunden bei Zimmertemperatur liegen gelassen. Aminophospholipide erscheinen als purpurfarbene Flecken.

d) Anfärbung mit Phosphormolybdänsäure-Zinn (II)-chlorid auf cholinhaltige Phospholipide (LEVINE und CHARGAFF, 1951)

Die trockenen Chromatogramme werden zunächst 10 Minuten mit dest. Wasser gewaschen und dann für 10 Minuten in eine 1%ige wässrige Lösung von Phosphormolybdänsäure gelegt. Anschließend werden die Papiere dreimal je 10 Minuten lang mit dest. Wasser gewaschen und schließlich in eine 1%ige Lösung von Zinn (II)-chlorid in 3n Salzsäure getaucht. Die cholinhaltigen Phospholipide erscheinen als blaue Flecken. Die Anfärbung ist nicht immer spezifisch, vor allem färbt sich Colamin-Kephalin gelegentlich mit, was auch von THIELE und BERGMANN (1957), MARINETTI et al. (1958) und LINDLAR (1967) beobachtet wurde.

e) Anfärbung auf Plasmalogene mit Dinitrophenylhydrazin (MARINETTI, 1962)

Die getrockneten Chromatogramme werden dreimal je 10 Minuten lang mit dest. Wasser gewaschen, getrocknet und dann ungefähr 1-2 Minuten in eine Lösung von 150 mg 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 100 ml 3n Salzsäure gelegt. Zur Entfernung des überschüssigen Reagenzes werden die Papiere viermal mit dest. Wasser je 10 Minuten lang gewaschen und noch feucht unter einer UV-Lampe betrachtet. Die Anfärbung ist nur positiv, wenn die Flecke im Gebiet von 366nm

absorbieren. Sie bilden dann dunkle Flecke.

f) Anfärbung mit SCHIFF'schem Reagenz auf Plasmalogene
(HACK, 1953)

Die getrockneten Chromatogramme werden in eine Lösung von SCHIFF'schem Reagenz (fuchsin-schwefelige Säure) gelegt. Plasmalogene färben sich violett-blau. Da die Anfärbung aber sehr unspezifisch ist, wurde sie nur als Ergänzung benutzt. Aus demselben Grund wurde auf die noch differenziertere Plasmalfärbung nach HACK und FERRANS (1959) verzichtet.

g) Bestimmung der R_F - Werte

Da die R_F -Werte größeren Schwankungen unterliegen je nach Raumtemperatur, Menge und Qualität der Steigflüssigkeit, Papierqualität und Konzentration der aufgetragenen Substanzen, wird auf eine Wiedergabe der einzelnen gefundenen R_F -Werte verzichtet. Im Prinzip entsprechen sie den von MARINETTI 1962 angegebenen Zahlen. In Verbindung mit den Farbreaktionen erschien vor allem das Verhältnis der R_F -Werte zueinander entscheidend und ausreichend zur Identifikation der untersuchten Phospholipide, soweit sie nicht schon durch Vergleich mit den Kontrollsubstanzen genügend bestimmt waren.

K. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung des Untersuchungsmaterials erfolgt nach den von R.A. FISHER 1956 angegebenen Methoden.

Es bedeuten

N	Gesamtzahl der Fälle
$\bar{x}$	arithmetischer Mittelwert
s	Standardabweichung
t	Abweichung
p	Wahrscheinlichkeit der Abweichung

Da den jeweiligen Probekollektiven in dieser Untersuchung verschiedene Kollektivträger zugrunde liegen, ist t hier der kalkulierte Wert der FISHER-t-Statistik zur Prüfung der Signifikanz der Differenz zweier Mittelwerte. Der arithmetische Mittelwert und die Standardabweichung werden mit Rou-

tinemethoden bestimmt.

Die Wahrscheinlichkeit p wird nach Berechnung der t -Verteilung (FISHER und STUDENT) aus der Tabelle von FISHER und YATES (1953) ermittelt.

In den Aufstellungen der Untersuchungsergebnisse (Tabelle I, II, IV) sind die Mittelwerte ($\bar{x}$), die Standardabweichungen (s) und die t -Werte angegeben. Bei den letzteren sind durch die Zeichen $a)$ oder $b)$ die jeweiligen Signifikanzstufen bezeichnet, wie in den Fußnoten zu den Tabellen näher erklärt wird. Es erscheint in Anbetracht der Kleinheit der Untersuchungsgruppen empfehlenswert, höchstens eine Signifikanzstufe $p \leq 0,02$ als aussagekräftig anzusehen. Konventionellerweise sieht man einen Wert für $p \leq 0,05$ schon als erheblichen Hinweis an.

III. E r g e b n i s s e

Die Konzentration der Gesamtlipide und die Verteilung von Cholesterin, Neutralfetten und Phospholipiden in den verschiedenen Untersuchungsgruppen zeigen die Tabellen I und II sowie die Abbildung 1. Man erkennt daraus, daß sich bei den Erythrozyten-Lipiden für die verschiedenen Erkrankungen mit Ausnahme der Thalassämie keine signifikanten Unterschiede nachweisen lassen. Bei der Thalassämie findet sich eine deutliche Vermehrung der Gesamtlipide, wobei der prozentuale Anteil von Cholesterin und Phospholipiden zugunsten der Neutralfette leicht erniedrigt erscheint.

Im Serum zeigt sich bei der Lymphogranulomatose eine deutliche Verminderung der Cholesterinester und damit des Gesamtcholesterins. Ferner findet sich im Serum eine Verminderung von freiem Cholesterin und Cholesterinestern bei gleichzeitiger Vermehrung der Neutralfette bei der myeloischen Leukämie. Bei der Thalassämie finden sich im Serum normale Gesamtlipidwerte, gleichzeitig aber erscheint der Anteil an Phospholipiden und Neutralfetten auf Kosten der Cholesterinwerte erhöht, ohne daß Aussagen über die Signifikanz gemacht werden können.

Untersucht man die gefundenen Werte daraufhin, wieweit Veränderungen in Serum und Erythrozyten sich gegenseitig beeinflussen, so ergibt sich, wie aus Abb. 1 deutlich wird, der immerhin auffällige Befund, daß bei der myeloischen Leukämie die Verminderung der Serum-Phospholipide von einer entsprechenden Vermehrung der Erythrozyten-Phospholipide be-

T a b e l l e I

Zusammensetzung der Erythrozyten-Lipide unter normalen und pathologischen Bedingungen

	N	Ges.Lip. mg/ml Ery	Cholesterin mg/ml Ery	%	Neutr.fette mg/ml Ery	%	P.-Lipide mg/ml Ery	%
Kontroll- gruppe	6	$\bar{x}$ 4,11 s 0,87	1,06 0,14	25,8 5,7	1,21 0,69	29,4 14,4	1,89 0,37	46,0 10,8
Lymphogranu- lomatose	6	$\bar{x}$ 4,37 s 1,16 t 0,439	0,86 0,27 1,653	19,7 3,3 1,799	1,56 0,96 0,743	35,7 9,6 1,079	1,96 0,34 0,348	44,9 14,6 0,137
Lymphat. Leukämie	4	$\bar{x}$ 3,84 s 0,15 t 0,603	0,93 0,38 0,811	24,2 9,1 0,301	1,09 0,37 0,333	28,5 9,7 0,136	1,82 0,05 0,381	47,4 1,4 0,207
Myeloische Leukämie	4	$\bar{x}$ 4,56 s 0,70 t 0,860	0,94 0,06 2,134	21,0 3,7 1,156	1,38 0,47 0,451	29,7 7,3 0,049	2,24 0,29 1,626	49,3 4,2 0,476
Thalassämie	1	$\bar{x}$ 5,93	1,12	18,9	2,34	39,5	2,47	41,7

T a b e l l e II

Zusammensetzung der Serum-Lipide unter normalem und pathologischen Bedingungen

	N	Ges. Lip. mg/100 ml	Cholest. ges. mg/100 ml	Cholest. frei %	Chol. ester mg/100 ml	Chol. ester %	Neutralfette mg/100 ml	Neutralfette %	Phospholipide mg/100 ml	Phospholipide %
Kontrol- gruppe	6	$\bar{x}$ 756	250	33,1	73	9,7	297	39,3	165	21,8
		s 172	75	3,7	22	0,5	92	5,9	58	6,8
Lymphogran- ulomatose	6	$\bar{x}$ 584	163	28,8	52	8,9	195	33,4	169	28,9
		s 145	40	3,6	12	1,0	49	5,2	68	5,6
		t 1,872	2,363 ^{a)}	2,057	2,059	1,667	2,411 ^{a)}	1,844	0,110	1,978
Lymphat.	4	$\bar{x}$ 721	228	32,0	74	10,1	259	36,9	181	24,0
		s 170	50	4,1	25	1,3	45	7,0	85	7,5
Leukämie		t 0,318	0,509	0,440	0,068	0,697	0,759	0,591	0,357	0,484
									0,424	0,041
Myeloische	4	$\bar{x}$ 624	146	22,9	49	7,5	163	25,9	247	40,3
		s 171	54	3,0	24	1,8	55	4,2	58	6,2
Leukämie		t 1,189	2,369 ^{a)}	4,554 ^{b)}	1,644	2,887 ^{a)}	2,597 ^{a)}	3,918 ^{b)}	2,187	4,363 ^{b)}
									1,586	1,172
Thalassämie	1	$\bar{x}$ 780	199	25,5	64	8,3	227	29,1	229	29,4
										260

a) $p \leq 0,05$ b) $p \leq 0,01$

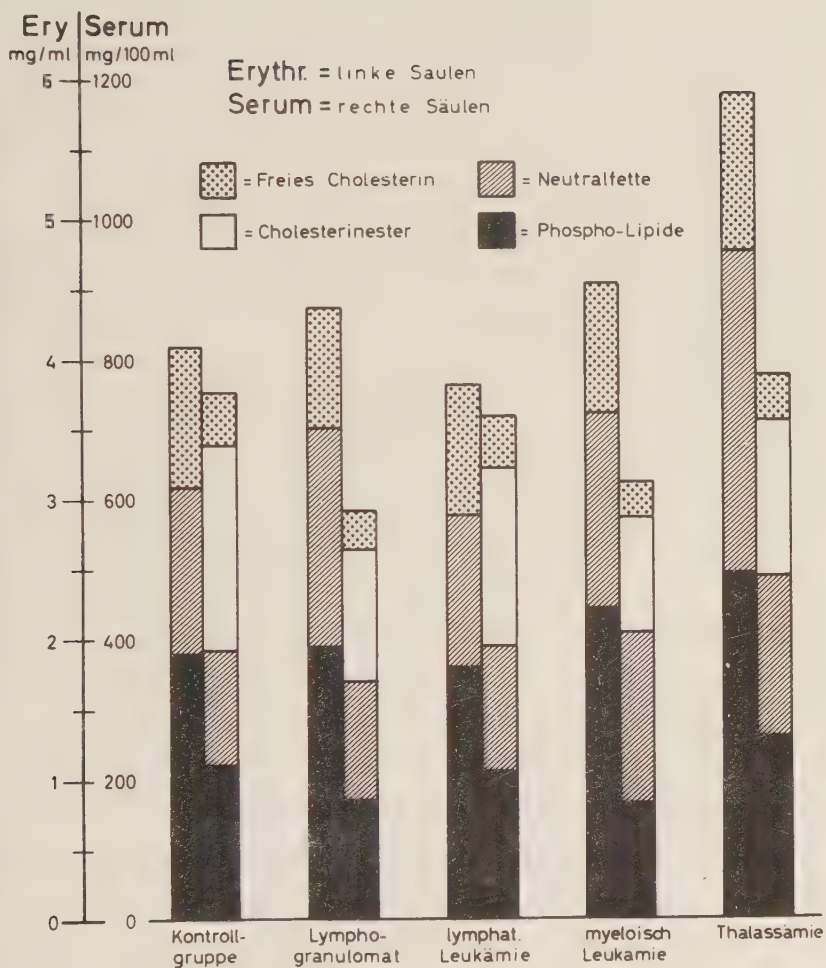


Abb. 1

Konzentration und Verteilung der Lipide in Erythrozyten und Serum unter normalen und pathologischen Bedingungen

gleitet wird. Es läßt sich jedoch ein Zufallsbefund statistisch nicht ausschließen.

Unabhängig davon zeigt die Tabelle III für die myeloische Leukämie eine deutliche Verschiebung des molaren Cholesterin/Lipidphosphor-Quotienten zugunsten des Phosphors sowohl in den Erythrozyten wie im Serum. Ganz ähnliche Befunde finden sich bei der Thalassämie, während sich bei der Lymphogranulomatose eine entsprechende Verschiebung dieses Quotienten nur in den Erythrozyten nachweisen läßt.

Die Abb. 2 zeigt zwei säulenchromatographisch gewonnene Elutionskurven, die zur Erläuterung der Phospholipid-auftrennung dienen sollen. Es handelt sich um eine Normalkurve und um die Kurve eines Falles von Lymphogranulomatose. Man erkennt jeweils fünf Kurven-Peaks, die den einzelnen Phospholipidfraktionen entsprechen. Während sich die beiden Kephalin-Gruppen recht gut von einander absetzen, gelingt es mit der benutzten Methode nicht, eine exakte Trennung von Lecithin und Sphingomyelin zu erzielen. Es kommt zur sogenannten "Schulterbildung", sodaß die errechnete Verteilung nur Annäherungswerte darstellen kann. Dieses Phänomen ist bei der verwendeten Methodik von zahlreichen anderen Autoren ebenfalls beschrieben worden (ZÖLLNER und KIRSCH, 1960; REED et al., 1960; WATSON, 1963; WAYS und HANAHAN, 1964).

Bei der Identifizierung der einzelnen Fraktionen mit Hilfe der Papierchromatographie (Abb. 3), die gleichzeitig zur Prüfung der Reinheit der säulenchromatographischen Trennung dient, zeigt sich, daß eine Verunreinigung durch Spuren anderer Fraktionen nicht immer ganz zu vermeiden war.

T a b e l l e III

Das molare Verhältnis von Gesamtcholesterin
zu Lipid-Phosphor in Erythrozyten und Serum
unter normalen und pathologischen Bedingungen

Cholesterin/Lipid-Phosphor
(mol/mol)

	Erythrozyten	Serum
Kontroll- gruppe	1,13	2,27
Lymphogran- ulomatose	0,88	2,01
Lymphat. Leukämie	1,03	2,21
Myeloische Leukämie	0,84	1,78
Thalassämie	0,91	1,54

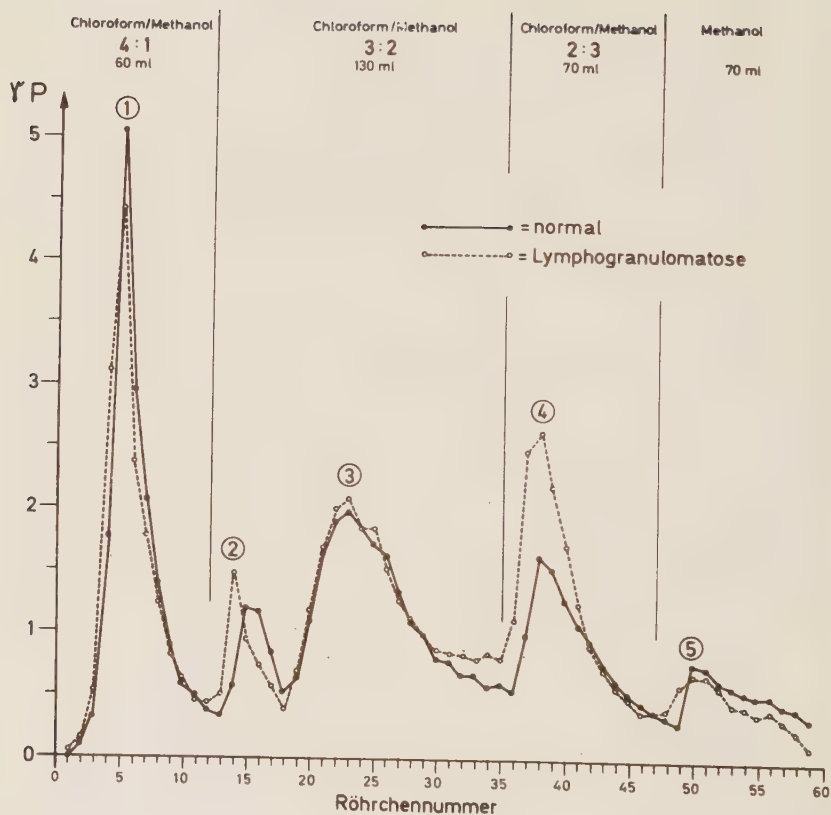


Abb. 2

Säulenchromatographische Elutionskurven für Erythrozyten-Phospholipide bei einem Normalfall und einem Fall von Lymphogranulomatose.
 Eingesetzte Lipidmenge: je 1,5 mg entspr. 60 γ P.
 (1) Colamin-Kephalin, (2) Serin-Kephalin,
 (3) Lecithin, (4) Sphingomyelin, (5) Lysolecithin.
 Pro Röhrchen werden 5 ml Eluat aufgefangen

So finden sich in der Serin-Kephalin-Fraktion gelegentlich noch Spuren von Colamin-Kephalin, vor allem aber in der Lysolecithin-Fraktion Spuren von Kephalinen und Lecithin. Das erklärt sicherlich die verhältnismäßig hohen Werte für Lysolecithin. Unabhängig von diesen durch mangelnde Trennschärfe der Säule bedingten Verunreinigungen läßt sich auf dem Papierchromatogramm noch eine Substanz nachweisen, die säulenchromatographisch mit der Serin-Kephalin-Fraktion eluiert wird, vom Färbeverhalten und vom R_F -Wert her aber mit hoher Wahrscheinlichkeit als Inositolphosphatid angesehen werden muß. Da eine exakte Isolierung dieser Substanz wegen der geringen Menge nicht möglich war, wird sie rechnerisch mit in die Serin-Kephalin-Fraktion einbezogen. Ebenso ist auf eine Isolierung der Plasmalogene verzichtet worden, die sich besonders im Bereich des Colamin-Kephalins nachweisen lassen.

Die Tabelle IV zeigt im einzelnen die Auftrennung und Verteilung der Phospholipidfraktionen entsprechend den ermittelten Phosphorwerten bei den verschiedenen Untersuchungsgruppen. Dabei finden sich nur bei der Lymphogranulomatose signifikante Abweichungen vom Normalen. Wie auch aus der Abbildung 2 hervorgeht, handelt es sich um eine Verminderung der Colamin-Kephalin-Fraktion und eine deutliche Vermehrung des Sphingomyelins.

Daneben zeigt sich bei der Thalassämie, soweit ein Einzelfall diesen Schluß erlaubt, ebenfalls eine deutliche Erniedrigung der Kephaline und des Lysolecithins und eine Erhöhung des Sphingomyelins. Berechnet man für die verschiedenen Untersuchungsgruppen die Colamin/Serin-Quotienten und die Sphingomyelin/Lecithin-Quotienten (Tab. V), so zeigen

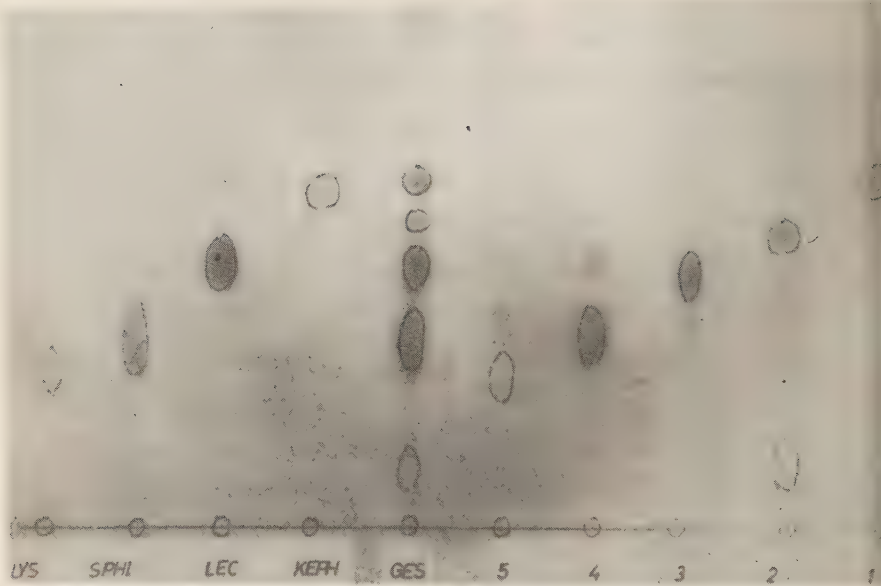


Abb. 3

Papierchromatogramm der Erythrozyten-Phospholipidfraktionen bei myeloischer Leukämie (Fall H. G.)

Anfärbung mit Rhodamin-B. Die Flecken, die bei Betrachtung unter UV-Licht sichtbar wurden, sind mit Bleistift markiert. Da keine Möglichkeit zum Photographieren unter UV-Licht bestand, wurde das Chromatogramm 4 x je 5 min mit Rhodamin gefärbt und getrocknet. Durch diese verlängerte Färbung wurden die Flecke einer normalen Auflichtphotographie zugänglich.

1 = Colamin-Kephalin	LYS)	
2 = Serin-Kephalin	SPHI)	
3 = Lecithin	LEC)	Kontrollsubstanzen
4 = Sphingomyelin	KEPH)	
5 = Lysolecithin		
GES = Gesamtpospholipidextrakt		

Fraktion 2 zeigt noch einen Fleck nahe der Startlinie, bei dem es sich um Inositolphosphatid handeln dürfte. Er ist auch im Gesamtextrakt nachweisbar.

T a b e l l e I V

Zusammensetzung der Erythrozyten-Phospholipide unter normalen und pathologischen Bedingungen (Angaben in Prozent der ermittelten Phosphorwerte)

	N	Kephaline		Lecithin	Sphingom.	Lysolec.
		Colamin	Serin			
Kontrollgruppe	6	$\bar{x}$ 29,1	8,3	31,8	22,6	8,2
		s 1,4	3,0	2,6	1,6	3,3
Lymphogranulomatose	6	$\bar{x}$ 25,9	9,7	31,7	24,5	8,2
		s 2,2	1,8	1,6	1,2	1,7
		t 3,520 ^{b)}	0,986	0,077	2,295 ^{a)}	----
Lymphat. Leukämie	4	$\bar{x}$ 28,2	7,1	32,3	24,1	8,4
		s 2,3	1,7	2,6	0,3	2,8
		t 0,949	0,714	0,290	1,786	0,099
Myeloische Leukämie	4	$\bar{x}$ 29,1	8,6	33,5	23,1	5,7
		s 2,9	1,6	2,3	2,4	2,2
		t -----	0,182	1,027	0,397	1,296
Thalassämie	1	$\bar{x}$ 25,4	7,3	31,1	29,2	7,0

a) : signifikant mit $p \leq 0,05$

b) : signifikant mit $p \leq 0,01$

sich noch deutlicher die der Tabelle IV entsprechenden Veränderungen. Bei der Lymphogranulomatose ist der Colamin/Serin-Quotient deutlich gegenüber der Norm erniedrigt, bei der Thalassämie findet sich ein erheblich erhöhter Sphingomyelin/Lecithin-Quotient.

Bei dem bereits erwähnten Fall einer lymphatischen Leukämie mit hochgradiger Anämie (s. Anhang, Fall F.J.) zeigen sich im Serum wie bei den übrigen Fällen von lymphatischer Leukämie keine Abweichungen von der Norm. Bei den Erythrozyten dagegen fällt eine erhebliche Reduzierung der Gesamtlipide bei prozentual normaler Verteilung von Cholesterin, Neutralfetten und Phospholipiden auf. Innerhalb der Phospholipid-Fraktion finden sich ferner Veränderungen, die sich in einem Colamin/Serin-Quotienten von 0,82 und einem Sphingomyelin/Lecithin-Quotienten von 0,55 niederschlagen. Ob diesen Befunden eine Bedeutung zukommt, kann nicht ausgesagt werden, wenn man berücksichtigt, daß es sich um einen Einzelfall handelt und die stark verringerte Erythrozytenzahl pro Volumeneinheit keine Doppelbestimmungen ermöglichte.

T a b e l l e V

Das Gewichtsverhältnis von Colamin- zu Serin-
Kephalin und Sphingomyelin zu Lecithin in
Erythrozyten unter normalen und pathologischen
Bedingungen

	Colamin/Serin (Gew./Gew.)	Sphingom./Lecithin (Gew./Gew.)
Kontroll- gruppe	3,51	0,71
Lymphogranu- lomatose	2,67	0,77
Lymphat. Leukämie	3,97	0,75
Myeloische Leukämie	3,38	0,69
Thalassämie	3,48	0,94

IV. Diskussion der Ergebnisse

a) Normalwerte

Betrachtet man die ermittelten Normalwerte, so zeigen die Werte für das Serum eine gute Übereinstimmung mit den Angaben in der Literatur (WELLER, 1962), während die Erythrozytenwerte vergleichsweise niedrig erscheinen. So geben zwar ERICKSON et al. (1938) den Wert für die Gesamtlipide noch mit 4,24 mg/ml Ery. an, neuere Arbeiten aber nennen in der Mehrzahl Werte zwischen 5 und 6 mg (REED et al., 1960; FARQUHAR, 1962; WESTERMAN et al., 1963; CROWLEY et al., 1965; van GASTEL et al., 1965).

Die Verteilung der einzelnen Lipidfraktionen in der vorliegenden Untersuchung zeigt, daß der ermittelte Anteil des Cholesterins mit der Literatur übereinstimmt (FARQUHAR, 1962; SLOVITER und TANAKA, 1964; CROWLEY et al., 1965), während der Anteil der Phospholipide niedriger ausfällt als in der Literatur angegeben. Entsprechend ist der nur rechnerisch ermittelte Wert für die Neutralfette deutlich höher als üblicherweise angegeben, obwohl die Angaben über diese Lipidfraktion im Schrifttum sehr unterschiedlich sind. Möglicherweise sind die erwähnten Diskrepanzen, besonders im Hinblick auf die jeweils angewandten Extraktionsverfahren, methodisch bedingt. Ein Vergleich mit einer Untersuchungsreihe, die von KÖRTGE und SCHLEGEL 1966 an über 50 Fällen mit der gleichen Methode, die in der vorliegenden Arbeit benutzt wird, ausgeführt wurde, zeigt eine sehr gute Übereinstimmung.

Die Verteilung der einzelnen Phospholipidfraktionen in den Erythrozyten stimmt bei den hier untersuchten Fällen weitgehend mit den Angaben von REED et al. (1960), FARQUHAR (1962), WAYS et al. (1964), SLOVITER und TANAKA (1964) und DODGE et al. (1966) überein. Einzig in der Lysolecithin-Fraktion ergeben sich Abweichungen, die durch die oben erwähnten methodischen Schwierigkeiten bei der Isolierung dieser Fraktion bedingt sein können.

b) Thalassämie

Bei der Betrachtung der gefundenen Werte für die Thalassämie fällt zunächst die deutliche Vermehrung der Gesamtlipide in den Erythrozyten auf, ein Befund, der ebenfalls von PHILLIPS und ROOME (1962) und NICOLOPOULOS et al. (1966) erhoben wurde. Während PHILLIPS und ROOME aber eine normale Verteilung der einzelnen Lipidfraktionen fanden, berichteten NICOLOPOULOS und Mitarbeiter von einer Verminderung des Lysolecithins und des Serinkephalins bei gleichzeitiger Vermehrung des Sphingomyelins. Diese Befunde lassen sich in der vorliegenden Arbeit bestätigen, zusätzlich fällt aber noch eine deutliche Verminderung des Colaminkephalins auf.

Weiterhin ist auffallend, daß der in Tab. V. wiedergegebene Sphingomyelin/Lecithin-Quotient von 0,94 für die Thalassämie dem von PHILLIPS (1962) angegebenen Wert von 0,97 für die Akanthozytose sehr nahe kommt (bei Übereinstimmung des Normalwertes von 0,71), ohne daß dafür eine Erklärung gefunden werden kann.

c) Lymphogranulomatose

MAGALINI et al. fanden 1956, daß es bei der Lymphogranulomatose in den aktiven Phasen der Krankheit zu einer Hypocholesterinämie kommt. Dieser Befund läßt sich hier sowohl im Serum wie in den Erythrozyten für 6 Fälle ausnahmslos frisch diagnostizierter Lymphogranulomatose bestätigen, zusätzlich fällt in den Erythrozyten die Verschiebung des Cholesterin/Lipid-Phosphor-Quotienten zugunsten des Phosphors auf, der gegenüber dem Normalwert vermehrt ist. Ebenfalls auffällig ist die statistisch signifikante Verminderung des Colaminkephalins und die Vermehrung des Sphingomyelins.

d) Lymphatische Leukämie

Obwohl sich statistisch weder im Serum noch in den Erythrozyten signifikante Abweichungen von der Norm feststellen lassen, fällt doch eine Erniedrigung der Erythrozyten-Gesamtlipide und des Cholesterins bei einer leichten Erhöhung des Phospholipidanteils auf. Ob zwischen diesen Befunden und der Übereinstimmung von POLLI und RATTI (1953) und KIDSON (1961) gemachten Beobachtung, daß die Lipidsynthese in den Leukozyten bei der lymphatischen Leukämie vermindert ist, ein Zusammenhang besteht, läßt sich nicht sicher entscheiden. Die Tatsache, daß sich im Serum der hier untersuchten Fälle von lymphatischer Leukämie normale Lipidwerte finden, dürfte jedenfalls nicht ausreichen, einen solchen Zusammenhang zu verneinen. In der Einleitung dieser Arbeit ist darauf hingewiesen worden, daß trotz rapider Austauschvorgänge zwischen Erythrozyten- und Serumcholesterin ein physiologisch oder pathologisch veränderter Serumcholesterinspiegel nicht unbedingt von ent-

sprechenden Veränderungen in den Erythrozyten begleitet sein muß.

e) Myeloische Leukämie

Hier ergibt sich dieselbe Fragestellung wie bei der lymphatischen Leukämie. POLLI und RATTI wie auch KIDSON fanden bei der chronischen myeloischen Leukämie in den Leukozyten eine Erhöhung der Gesamtlipide und der Phospholipide bei gleichzeitiger Verminderung des Cholesterins. Diese Veränderungen lassen sich in der vorliegenden Untersuchung auch für die Erythrozyten nachweisen. Darüber hinaus finden sich Veränderungen im Serum. Anders als bei den Erythrozyten sind aber im Serum sowohl das Cholesterin wie auch die Gesamtlipide und die Phospholipide vermindert. Diese Befunde lassen sich zur Unterstützung der These heranziehen, daß Veränderungen in der Lipidzusammensetzung von Serum und Erythrozyten weitgehend unabhängig von einander ablaufen.

Ob darüber hinaus aus den gleichartigen Veränderungen an den Lipiden von Leukozyten und Erythrozyten bei der myeloischen Leukämie der Schluß zu ziehen ist, daß eine gesteigerte Lipidsynthese in den Leukozyten von einer entsprechenden Vermehrung der Lipide in den Erythrozyten gefolgt wird, läßt sich, wie bei der lymphatischen Leukämie, aus den vorliegenden Untersuchungen nicht entscheiden.

Aus den bisher veröffentlichten Untersuchungen über Konzentration und Zusammensetzung der Erythrozyten-Lipide bei den verschiedenen Formen von hämolytischen Anämien geht hervor, daß nur in wenigen Fällen eindeutige Veränderungen innerhalb der Lipidfraktion nachweisbar sind. Für die Thalassämie konnten derartige Veränderungen in der vorliegenden Ar-

beit bestätigt werden.

Die Frage der Veränderung von Erythrozyten-Lipiden bei Erkrankungen, die vorwiegend die weiße Blutzellreihe und das retikulo-histiozytäre System betreffen, ist in der Literatur bisher kaum behandelt worden. Die hier vorliegenden Ergebnisse lassen vermuten, daß deutliche Veränderungen in der Zusammensetzung und Konzentration der Erythrozyten-Lipide nur bei der Lymphogranulomatose vorkommen, während die gefundenen Abweichungen bei der myeloischen und lymphatischen Leukämie noch innerhalb der Zufallsverteilung liegen.

Die Tatsache jedoch, daß die Veränderungen der Erythrozyten-Lipide bei den beiden letztgenannten Krankheitsbildern den in der Literatur beschriebenen Leukozyten-Lipidveränderungen bei diesen Erkrankungen entsprechen, läßt die Frage nach einer gemeinsamen Ursache oder einem kausalen Zusammenhang aufkommen. Zur Klärung dieser Frage dürfte, ähnlich wie bei entsprechenden Untersuchungen an Fällen von hämolytischer Anämie, die Analyse der Verteilung der einzelnen Fettsäuren von großer Bedeutung sein.

V. Zusammenfassung

Es wird untersucht, ob sich bei Hämoblastosen Veränderungen an den Lipiden in menschlichen Erythrozyten nachweisen lassen. Mit Hilfe von Lipidextraktion durch ein Chloroform-Methanol-Gemisch, säulenchromatographischer Auftrennung an einer Kieselgel-Säule und papierchromatographischer Identifizierung auf mit Kieselgel imprägniertem Papier werden in den Erythrozyten Gesamtlipide, Cholesterin und Phospholipide sowie die Verteilung von Kephalin, Lecithin, Sphingomyelin und Lysolecithin bei der myeloischen Leukämie, der lymphatischen Leukämie und der Lymphogranulomatose bestimmt. Zum Vergleich dient eine Kontrollgruppe hämatologisch gesunder Fälle und ein Fall von Thalassämie.

Gleichzeitig werden im Serum Gesamtlipide, Cholesterin und Phospholipide bestimmt.

Es lassen sich signifikante Abweichungen vom Normalen nur für die Erythrozytenlipide bei der Lymphogranulomatose nachweisen. Die Abweichungen, die sich bei der myeloischen und der lymphatischen Leukämie in den Erythrozyten finden, liegen noch innerhalb der Zufallsverteilung, zeigen jedoch auffallende Ähnlichkeit mit in der Literatur beschriebenen Lipidveränderungen in den Leukozyten bei diesen beiden Krankheitsbildern.

Herrn Professor Dr. P. Körtge danke ich für die Anregung zur Fragestellung dieser Arbeit sowie für seine tatkräftige Unterstützung im Verlauf dieser Untersuchung.

Herrn Professor Dr.Dr.h.c. H. Frhr. v. Kreß, Direktor der I. Medizinischen Klinik der Freien Universität Berlin, danke ich für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes.

Für die bereitwillige Überlassung der Blutproben von frisch entdeckten, unbehandelten Hämoplastosen danke ich Herrn Oberarzt Professor Dr. H. Gerhartz, Leiter der Hämatologischen Abteilung der I. Medizinischen Klinik der Freien Universität Berlin, Herrn Professor Dr. W. Pribilla, Ärztlicher Direktor und Chefarzt der II. Inneren Abteilung am Städtischen Krankenhaus Berlin-Moabit, Herrn Professor Dr. K. Holldack, Ärztlicher Direktor und Chefarzt der I. Inneren Abteilung am Städtischen Krankenhaus Berlin-Neukölln sowie Herrn Professor Dr. F. Trautmann, Chefarzt der II. Inneren Abteilung am Städtischen Krankenhaus Berlin-Neukölln.

Herrn Dr. Genthe und der Firma Nattermann & Cie. GmbH, Köln, danke ich für die Überlassung von gereinigten Phospholipidfraktionen.

A N H A N G

Verzeichnis der untersuchten Fälle

W = I. Med. Universitätsklinik der FU im Krshs. Westend
HA = Hämoblastoseambulanz der I. Med. Univ. Klinik der FU
M = II. Inn. Abt. am Städt. Krsh. Moabit
N = I. und II. Inn. Abt. im Städt. Krsh. Neukölln

A. Kontrollgruppe

1. Th. L., männlich, 27 Jahre
Datum der Blutentnahme: 23.1.67
Diagnose: gesund

Blutbild: Hb 16,2 g%, Ery 5,4 Mill., Hb_E 30 xx
Leuko 6500
Hämatokrit 46,0 %
2. M. Sch., weiblich, 29 Jahre
Datum der Blutentnahme: 1.2.67
Diagnose: gesund

Blutbild: Hb 14,2 g%, Ery 4,6 Mill., Hb_E 31 xx
Leuko 6200
Hämatokrit 43,7 %
3. T. A., männlich, 28 Jahre
Datum der Blutentnahme: 13.2.67
Diagnose: gesund

Blutbild: Hb 15,6 g%, Ery 5,2 Mill., Hb_E 30 xx
Leuko 7000
Hämatokrit 47,7 %
4. I. H., weiblich, 51 Jahre
Datum der Blutentnahme: 20.3.67
Diagnose: Ulcus duodeni

Blutbild: Hb 13,9 g%, Ery 4,57 Mill., Hb_E 31 xx
Leuko 6400
Hämatokrit 42,0 %
Krankenblatt Nr. 2988/67 (W)
5. W. Z., männlich, 64 Jahre
Datum der Blutentnahme: 19.4.67
Diagnose: Ulcus ventriculi penetrans

Blutbild: Hb 15,5 g%, Ery 4,64 Mill., Hb_E 33 xx
Leuko 9400
Hämatokrit 45,9 %
Krankenblatt Nr. 3508/67 (W)

6. K. P., männlich, 18 Jahre
Datum der Blutentnahme: 26.4.67
Diagnose: Proktitis + Ulcus ventriculi

Blutbild: Hb 16,0 g%, Ery 5,16 Mill., Hb_E 31 ♂♂
Leuko 8200
Hämatokrit 52,5 %
Krankenblatt Nr. 3953/67 (W)

B. Lymphogranulomatose

1. K. D., männlich, 50 Jahre
Datum der Blutentnahme: 20.2.67
Diagnose: Lymphogranulomatose (PE aus Cervical-Lk
am 23.1.67)

Blutbild: Hb 11,9 g%, Ery 4,6 Mill., Hb_E 27 ♂♂
Leuko 7800 (2 Stabk., 41 Segm.k., 7 Eos.,
32 Lympho., 11 Mono.)
Hämatokrit 41,2 %
Krankenblatt Nr. 1483/67 (W)

2. Ch. Sch., weiblich, 32 Jahre
Datum der Blutentnahme: 3.4.67
Diagnose: Lymphogranulomatose (PE aus Lk. am 23.3.67)

Blutbild: Hb 10,4 g%, Ery 4,66 Mill., Hb_E 23 ♂♂
Leuko 13900 (86 Segm., 11 Lympho., 3 Mono.)
Hämatokrit 36,8 %
Krankenblatt Nr. 2568/67 (M)

3. H. H., weiblich, 29 Jahre
Datum der Blutentnahme: 7.6.67
Diagnose: Lymphogranulomatose (PE aus LK. am 2.6.67)

Blutbild: Hb 15,0 g%, Ery 5,03 Mill., Hb_E 29,9 ♂♂
Leuko 4300 (3 Stabk., 72 Segm., 1 Eos.,
22 Lympho., 2 Mono.)
Hämatokrit 44,3 %
Krankenblatt Nr. 4867/67 (M)

4. E. B., weiblich, 79 Jahre
Datum der Blutentnahme: 11.7.67
Diagnose: Lymphogranulomatose (PE aus Lk. am 15.6.67)

Blutbild: Hb 11,7 g%, Ery 3,69 Mill., Hb_E 31,8 ♂♂
Leuko 7500 (2 Stabk., 72 Segm., 5 Eos.,
16 Lympho., 5 Mono.)
Hämatokrit 43,8 %
Krankenblatt Nr. 6175/67 (M)

5. L. St., weiblich, 53 Jahre
Datum der Blutentnahme: 24.7.67
Diagnose: Lymphogranulomatose (PE aus Lk. am 30.6.67)

Blutbild: Hb 13,5 g%, Ery 5,29 Mill., Hb_E 27 $\delta\delta$
Leuko 4400 (77 Segm., 10 Eos., 1 Baso.,
11 Lympho., 1 Mono.)
Hämatokrit 40,4 %
Krankenblatt: H.A.
6. P. D., männlich, 53 Jahre
Datum der Blutentnahme: 14.8.67
Diagnose: Lymphogranulomatose (PE aus Lk. am 1.8.67)

Blutbild: Hb 14,4 g%, Ery 4,49 Mill., Hb_E 32,7 $\delta\delta$
Leuko 4800 (4 Stabk., 60 Segm., 1 Eos.,
27 Lympho., 8 Mono.)
Hämatokrit 33,7 %
Krankenblatt Nr. 6529/67 (M)

C. Lymphatische Leukämie

1. F. W., männlich, 59 Jahre
Datum der Blutentnahme: 10.4.67
Diagnose: chron. lymphat. Leukämie (Sternalpunktion
am 6.4.67)

Blutbild: Hb 13,0 g%, Ery 4,36 Mill., Hb_E 30 $\delta\delta$
Leuko 9500 (30 Segm., 2 Baso., 60 Lympho.,
8 Mono.)
Hämatokrit 42,5 %
Krankenblatt Nr. 3272/67 (M)
2. M. C., weiblich, 73 Jahre
Datum der Blutentnahme: 27.4.67
Diagnose: chron. lymphat. Leukämie (Sternalpunktion
am 19.4.67)

Blutbild: Hb 14,0 g%, Ery 4,21 Mill., Hb_E 33 $\delta\delta$
Leuko 19800 (1 Stabk., 33 Segm., 2 Eos.,
64 Lympho.)
Hämatokrit 43,2 %
Krankenblatt: H.A.
3. E. Z., männlich, 67 Jahre
Datum der Blutentnahme: 3.5.67
Diagnose: gut ausgereifte, chron. lymphat. Leukämie
(Sternalpunktion am 21.4.67)

Blutbild: Hb 18,7 g%, Ery 6,15 Mill., Hb_E 30 $\delta\delta$
Leuko 13000 (3 Stabk., 28 Segm., 1 Eos.,
64 Lympho., 4 Mono.)

Hämatokrit 51,8 %
Krankenblatt: H.A.

4. F. L., weiblich, 75 Jahre
Datum der Blutentnahme: 10.5.67
Diagnose: chron. lymphat. Leukämie (Sternalpunktion
am 9.5.67)

Blutbild: Hb 11,9 g%, Ery 4,07 Mill., Hb_E 30 ♂♂
Leuko 328000 (2 Segm., 1 Eos., 96 Lympho.,
1 Mono.)
Hämatokrit 43,2 %
Krankenblatt: H.A.

5. F. J., weiblich, 58 Jahre
Datum der Blutentnahme: 27.3.67
Diagnose: chron. lymphat. Leukämie (seit 2 Jahren)

Blutbild: Hb 5,6 g%, Ery 2,02 Mill., Hb_E 27,7 ♂♂
Leuko 20400 (2 Segm., 98 Lympho.)
Hämatokrit 25,0 %
Krankenblatt Nr. 2768/67 (M)

D. Myeloische Leukämie

1. J. W., männlich, 62 Jahre
Datum der Blutentnahme: 28.2.67
Diagnose: gut ausgereifte, chron. Myelozyten-Leukämie
(Sternalpunktion am 1.2.67), Diabetes mellitus

Blutbild: Hb 15,8 g%, Ery 5,36 Mill., Hb_E 30 ♂♂
Leuko 24200 (2 Metamy., 4 Stabk., 68 Segm.,
9 Baso., 12 Lympho., 5 Mono.)
Hämatokrit 55,0 %
Krankenblatt: H.A.

2. V. M., männlich, 71 Jahre
Datum der Blutentnahme: 21.6.67
Diagnose: chron. Myelozyten-Leukämie (Sternalpunktion
am 14.6.67)

Blutbild: Hb 13,3 g%, Ery 4,40 Mill., Hb_E 30 ♂♂
Leuko 96000 (8 Myelobl., 2 Promyelo.,
18 Myelo., 12 Metamyel., 9 Stabk., 39 Segm.,
1 Eos., 7 Baso., 4 Lympho.)
Hämatokrit 37,6 %
Krankenblatt: H.A.

3. R. G., weiblich, 40 Jahre
Datum der Blutentnahme: 14.8.67
Diagnose: Myeloische Leukämie (Stammzellen-Leukämie)

Blutbild: Hb 9,6 g%, Ery 2,75 Mill., Hb_E 34,6 ♂♂

Leuko 54000 (1 Myelobl., 0,5 Paramyelozyt.,
0,5 Myelozyt., 0,5 Metamyelozyt., 3,5 Stäbchen.,
33,5 Segm., 12 Lympho., 48,5 Mono = atyp.
Paramyeloblasten)

Hämatokrit 37,0 %

Krankenblatt Nr. 8178/67 (N)

4. H. G., männlich, 56 Jahre

Datum der Blutentnahme: 14.8.67

Diagnose: Unreife zellige Leukämie resp. Retikuloze
(Sternalpunktion am 11.8.67: junge indiffer.
Zellen, teils Myelobl., teils Retikulum-
zellen)

Blutbild: Hb 7,7 g%, Ery 2,74 Mill., Hb_E 28,2 %
Leuko 73200 (80 Myelobl., 2 Promyelozyt.,
3 Myelozyt., 3 Metamyelozyt., 1 Stäbchen., 5 Segm.,
1 Baso., 5 Lympho.)
Hämatokrit 34,0 %

Krankenblatt Nr. 7159/67 (N)

E. Thalassämie

1. L. A., weiblich, 66 Jahre

Datum der Blutentnahme: 14.3.67

Diagnose: Thalassaemia minor (heterozygote Beta-Thalas-
sämie) Hb_F 2,5 %, Hb_{A2} 4,8 %

Blutbild: Hb 13,1 g%, Ery 6,48 Mill., Hb_E 22 %
Leuko 13000 (5 Stäbchen., 67 Segm., 1 Eos.,
22 Lympho., 5 Mono.)
Reticuloz. 13 %
Hämatokrit 40,0 %

Krankenblatt: H.A.

E i n z e l w e r t e

S e r u m

E r y t h r o z y t e n

	Name	Ges.Lip. mg/100 ml	Chol.ges. mg/100 ml	Chol.frei mg/100 ml	P-Lip. mg/100 ml	Ges.Lip. mg/ml Ery	Cholest. mg/ml Ery	P-Lip. mg/ml Ery	Kephaline		Leocth.		Sphing.		Lysolec.	
									Colam.	Serin	%	%	%	%	%	%
Kontroll- Gruppe	Th.L.	778	227	69	265	4,81	0,93	1,96	29,3	7,2	35,8	24,4			3,4	
	M.Sch.	457	147	42	144	4,80	1,20	2,24	28,3	12,3	31,5	21,0			6,5	
	T. A.	796	207	68	226	4,58	0,96	1,85	27,7	11,5	33,4	20,9			6,0	
	I. H.	868	305	86	280	4,17	1,12	2,31	31,4	5,4	28,7	22,9			9,0	
Lymphogre- nulatose	W. Z.	954	361	106	252	2,52	0,68	1,63	27,8	8,1	32,1	23,6			12,8	
	K. P.	682	253	68	156	3,76	1,20	1,32	29,8		29,4	22,8			9,9	
	K. D.	698	198	67	163	6,32	1,20	1,65	24,0	8,7	31,9	24,9			10,6	
	Ch.Sch.	503	152	46	181	4,28	1,12	2,61	24,3	12,6	30,3	23,1			9,7	
Lymphat. Leukämie	H. H.	533	165	51	164	3,25	0,50	1,81	24,7	10,6	30,9	25,9			7,8	
	E. B.	561	135	48	156	3,56	0,63	1,58	26,4	7,0	33,7	25,6			7,0	
	L. St.	807	231	65	234	3,66	0,77	1,77	27,5	9,7	33,5	23,4			5,8	
	P. D.	401	126	35	110	5,11	0,93	2,01	28,7	9,4	29,9	23,9			8,1	
Myeloische Leukämie	W. W.	482	169	40	153	3,72	0,65	1,81	26,6	7,2	33,7	24,2			8,0	
	M. C.	763	282	94	211	3,95	1,48	1,87	29,8	5,6	35,4	24,6			4,6	
	E. Z.	740	208	72	221	3,83	0,73	1,84	30,7	6,1	35,7	24,7			9,9	
	F. L.	879	253	90	244	3,67	0,66	1,76	25,4	9,5	29,3	24,8			11,0	
Thalasämie	F. J. 1)	707	244	76	197	2,78	0,67	1,37	16,1	19,6	29,0	16,0			19,3	
	J. W.	826	213	79	229	3,67	0,96	2,02	28,1	6,6	33,1	23,6			6,4	
	V. M.	684	152	57	166	4,35	0,85	1,97	27,0	7,4	32,0	23,8			6,6	
	R. G.	559	137	33	160	4,84	0,98	2,30	26,2	10,6	31,7	25,3			6,6	
Thalasämie	H. G.	427	82	27	106	5,36	0,97	2,05	26,2		27,1	19,7			4,3	
	L. A.	780	199	64	260	5,93	1,12	2,47	25,4	7,3	31,1	29,2			7,0	

1) Dieser Fall wurde wegen einer hochgradigen Anämie nicht mit in die statistische Auswertung einbezogen.

Literaturverzeichnis

BALINT, J.A.; W.L. NYHAN; P. LIETMAN; D.A. TURNER

Lipid patterns in NIEMANN-PIECK-disease.
J. Lab. Clin. Med. 58, 548 - 558 (1961)

BARRY, R.M.

The phospholipid distribution in the erythrocyte in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria.
Brit. J. Haemat. 5, 212 - 216 (1959)

BARTLETT, G.R.

Phosphorus assay in column chromatography.
J. Biol. Chem. 234, 466 - 468 (1959)

BASSEN, F.A.; A.L. KORNZWEIG

Malformation of the erythrocytes in a case of atypical retinitis pigmentosa.
Blood 5, 381 - 387 (1950)

BEUMER, H.; M. BÜRGER

Zur Lipoidchemie des Blutes
II. Über die Zusammensetzung der Stromata menschlicher Erythrocyten mit besonderer Berücksichtigung der Lipide.
Arch. exp. Path. Pharmac. 71, 311 - 328 (1913)

BISHOP, C.; D.M. SURGENOR (ed.)

The Red Blood Cell.
Academic Press New York - London (1964)

BORGSTRÖM, B.

Investigation on lipide separation methods. Separation of phospholipides from neutral fat and fatty acids.
Acta Physiol. Scand. 25, 101 - 110 (1952)

BOYD, E.M.

Lipemia of pregnancy.
J. Clin. Invest. 13, 347 - 363 (1934)

BOYD, E.M.

A comparison of the direct versus the indirect method of estimating the lipid composition of the red blood cells.

J. Lab. Clin. Med. 22, 237 - 240 (1936 a)

BOYD, E.M.

The lipid composition of the white blood cells in leucemia.

Arch. Path. 21, 739 - 748 (1936 b)

BOYD, E.M.

Thyroid disease and blood lipids.

Quart. J. Med. 5, 455 - 460 (1936)

BRADLOW, B.A.; J. LEE; R. RUBENSTEIN

Erythrocyte phospholipids:

Quantitative thin-layer chromatography in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria and hereditary spherocytosis.

Brit. J. Haemat., 11, 315 - 322 (1965)

BRAGDON, J.H.

Extraction of lipids from serum.

In: SUNDERMAN, F.W. and SUNDERMAN, F.W. junr. (ed.):

"Lipids and the Steroid Hormones in Clinical Medicine", pp. 6 - 8

J.B. Lippincott Co., Philadelphia (1960)

BRUN, G.C.

Cholesterol content of the red blood cells in man.

Nyt Nordisk Forlage, Copenhagen u. London (1939)

BUCHANAN, A.A.

Lipid synthesis by human leukocytes in vitro.

Biochem. J. 75, 315 - 320 (1960)

BÜRGER, M.; H. BEUMER

Über die Phosphatide der Erythrocytenstromata bei Hammel und Menschen.

Biochem. Zschr. 56, 446 - 456 (1913)

BÜRGER, M.

Der Cholesterinhaushalt beim Menschen.
Ergebn. Inn. Med. Kinderheilk. 34, 583 - 701 (1928)

CROWLEY, J.; P. WAYS; J.W. JONES

Human fetal erythrocyte and plasma lipids.
J. Clin. Invest. 44, 989 - 998 (1965)

DODGE, J.T.; C. MITCHELL; D.I. HANAHAN

The preparation and chemical characteristics of
hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes.
Arch. Biochem. 100, 119 - 130 (1963)

DODGE, J.T.; G.B. PHILLIPS

Autoxidation as a cause of altered lipid
distribution in extracts from human red cells.
J. Lipid. Res. 7, 387 - 395 (1966)

ERICKSON, B.N.; H.H. WILLIAMS; S.S. BERNSTEIN; I. AVIN;
R.L. JONES; I.G. MACY

The lipid distribution of posthemolytic residue
or stroma of erythrocytes.
J. Biol. Chem. 122, 515 - 528 (1938)

FARQUHAR, J.W.

Human erythrocyte phosphoglycerides.
I. Quantification of plasmalogens, fatty acids
and fatty aldehydes.
Biochim. Biophys. Acta 60, 80 - 89 (1962)

FISHER, R.A.; F. YATES

Statistical tables for biological, agricultural
and medical research.
Oliver and Boyd, Edinburgh and London (1953)

FISHER, R.A.

Statistische Methoden für die Wissenschaft.
Oliver and Boyd, Edinburgh and London (1956)

FISKE, C.H.; Y. SUBBAROW

The colorimetric determination of phosphorus.
J. Biol. Chem. 66, 375 - 400 (1925)

FOLDES, F.F.; A.I. MURPHY

Distribution of cholesterol, cholesterol esters
and phospholipid phosphorus
(a) in normal blood,
(b) in blood in thyroid disease.

Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 62, 215 - 218 (1946)

FORMIJNE, P.; N.J. POULIE; J.A. RODBARD

Determination of phospholipid fractions in the
human erythrocyte.

Clin. Chim. Acta 2, 25 - 34 (1957)

GADRAT, J.; L. DOUSTE-BLAZY; A. RIBET; J.-P. PASCAL;
J. FREXINOS

Syndrome de Zieve associé a une pancréatite
calculifiante. Le rôle du pancréas et des lyso-
lécithines dans l'anémie.

Presse méd. (Paris) 75, 789 - 792 (1967)

GASTEL, C. van; D. van den BERG; J. de GIER;
L.L. M. van DEENEN

Some lipid characteristics of normal red blood
cells of different age.

Brit. J. Haemat. 11, 193 - 199 (1965)

GIER, J. de; L.L.M. van DEENEN

Some lipid characteristics of red cell membranes
of various animal species.

Biochim. Biophys. Acta 49, 286 - 296 (1961)

GIER, J. de; L.L.M. van DEENEN; M.C. VERLOOP; C. van GASTEL

Phospholipid and fatty acid characteristics of
erythrocytes in some cases of anaemia.

Brit. J. Haemat. 10, 246 - 256 (1964)

GOTTFRIED, E.L.

Lipids of human leukocytes: relation to cell type.

J. Lipid. Res. 8, 321 - 327 (1967)

HACK, M.H.

Analysis of lipids by spot tests on filter-paper
disk chromatograms.

Biochem. J. 54, 602 - 605 (1953)

HACK, M.H.; V.J. FERRANS

Papierchromatographische Analyse von Plasmaproteinen.

Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chem. 315,
157 - 162 (1959)

HACK, M.H.; C.W. LEATHERMAN

The chromatography of phosphatides on silicic-acid impregnated filter paper.

J. Chromatography 5, 531 - 538 (1961)

HAGERMAN, J.S.; R.G. GOULD

The in vitro interchange of cholesterol between plasma and red cells.

Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 78, 329 - 332 (1951)

HANAHAN, D.J.; J.C. DITTMER; E. WARASHINA

Column chromatographic separation of classes of phospholipoids.

J. Biol. Chem. 28, 685 - 700 (1957)

HANAHAN, D.J.; R. M. WATTS; D. PAPPAJOHN

Some chemical characteristics of the lipids of human and bovine erythrocytes and plasma.

J. Lipid. Res. 1, 421 - 432 (1960)

HARRIS, I.M.; T.A. PRANKERD; M.P. WESTERMANN

Abnormality of phospholipids in red cells of patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria.

Brit. Med. J., pp. 1276 - 1277 (1957)

HIRSCH, J.; E.H. AHRENS jr.

The separation of complex lipid mixtures by the use of silicic acid chromatography.

J. Biol. Chem. 233, 311 - 320 (1958)

HOOGHWINKEL, G.J.

Afwijkingen in het patroon der lipiden bij een patient met acanthocytose en bij enige van zijn familieleden.

Nederl. T. Geneesk. 108, 1831 - 1832 (1964)

KATES, M.; A.C. ALLISON; A.T. JAMES

Phosphatides of human blood cells and their
role in spherocytosis.
Biochim. Biophys. Acta 48, 571 - 582 (1961)

KIDSON, C.

Relation of leucocyte lipid metabolism to
cell age: Studies in infective leucocytosis..
Brit. J. Exper. Pathol. 42, 597 - 602 (1961)

KLENK, E.; K. LAUENSTEIN

Über die zuckerhaltigen Lipide des Erythrocyten-
stromas von Mensch und Rind.
Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chem. 291,
249 - 258 (1952)

KLENK, E.; H. WOLTER

Über die zuckerhaltigen Lipide des Erythrocyten-
stromas vom Pferde.
Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chem. 291,
259 - 265 (1952)

KÖRTGE, P.; M. SCHLEGEL

Unveröffentlichtes Material (1966)

LAMBERS, K.; M. EGGSTEIN

Der Fettgehalt der Granulocyten und ihrer Vor-
stufen unter normalen und pathologischen Bedin-
gungen.
Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 65, 191 - 195 (1959)

LEVINE, C.; E. CHARGAFF

Procedures for the microestimation of nitrogenous
phosphatide constituents.
J. Biol. Chem. 192, 465 - 479 (1951)

LINDLAR, F.

Persönliche Mitteilung (1967)

LONDON, M.I.; H. SCHWARZ

Erythrocyte Metabolism: The metabolic behavior of
the cholesterol of human erythrocytes.
J. Clin. Invest. 32, 1248 - 1252 (1953)

MAGALINI, S.I.; M. STEFANINI; H.M. MARIN

Diagnostic significance of changes in free, esterified and protein-bound cholesterol, lipo- and glyco- proteins in lymphoma and multiple myeloma.
Amer. J. Med. Sci. 231, 155 - 164 (1956)

MALAMOS, B.; C. MIRAS; G. LEVIS; J. MANTZOS

The in vitro incorporation of acetate-1-C¹⁴ into normal and leukemic leukocyte lipids.
J. Lipid. Res. 3, 222 - 228 (1962)

MARINETTI, G.V.; E. STOTZ

Chromatography of phosphatides on silicic acid impregnated paper.
Biochim. Biophys. Acta 21, 168 - 170 (1956)

MARINETTI, G.V.; J. ERBLAND; J. KOCHEN

Quantitative chromatographic analysis of phospholipids.
Fed. Proc. 16, 837 - 844 (1957)

MARINETTI, G.V.; J. ERBLAND; E. STOTZ

Phosphatides of pig heart cell fractions.
J. Biol. Chem. 233, 562 - 565 (1958)

MARINETTI, G.V.; M. ALBRECHT; T. FORD; E. STOTZ

Analysis of human plasma phosphatides by paper chromatography.
Biochim. Biophys. Acta 36, 4 - 13 (1959)

MARINETTI, G.V.

Chromatographic separation, identification and analysis of phosphatides.
J. Lipid. Res. 3, 1 - 20 (1962)

MARKS, P.A.; A. GELLHORN; C. KIDSON

Lipid synthesis in human leukocytes, platelets and erythrocytes.
J. Biol. Chem. 235, 2579 - 2583 (1960)

MARTIN, J.B.; D.M. DOTY

Determination of inorganic phosphate.
Modification of the isobutyl alcohol procedure.
Analyt. Chem. 21, 965 - 967 (1949)

MATSUMOTO, M.

The chemistry of the lipides of posthemolytic residue or stroma of erythrocytes.
VII. Studies on chondrosamine-containing glycolipide and sphingomyelin of hog blood stroma.
J. Biochem. (Tokyo) 43, 53 - 62 (1956)

MUNN, J.J.

Studies of lipids in human red cells.
Brit. J. Haemat. 4, 344 - 349 (1958)

MURPHY, J.R.

Erythrocyte metabolism.
IV. Equilibration of cholesterol-4-C¹⁴ between erythrocytes and variously treated sera.
J. Lab. Clin. Med. 60, 571 - 578 (1962)

MYERS, J.D.; R.E. OLSON; J.H. LEWIS; T.J. MORAN

Xanthomatous biliary cirrhosis following chlorpromazine, with observations indicating overproduction of cholesterol, hyperprothrombinemia, and the development of portal hypertension.
Trans. Ass. Amer. Physicians 70, 243 - 261 (1957)

NELSON, G.J.

Composition of neutral lipids from erythrocytes of common mammals.
J. Lipid. Res. 8, 374 - 379 (1967 a)

NELSON, G.J.

Lipid composition of erythrocytes in various mammalian species.
Biochim. Biophys. Acta 144, 221 - 232 (1967 b)

NICOLOPOULOS, D.; A. AGATHAPOULOS; M. CONSTANTOULAKIS

The phospholipids of normal and thalassaemic erythrocytes.
Brit. J. Haemat. 12, 189 - 194 (1966)

PEZOLD, F.A.

Lipide und Lipoproteine im Blutplasma.
pp. 110 - 113, Springer Verlag Berlin-
Göttingen - Heidelberg (1961)

PHILLIPS, G.B.; N.S. ROOME

Phospholipids of human red blood cells.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 100, 489 - 492 (1959)

PHILLIPS, G.B.

Quantitative chromatographic analysis of plasma
and red blood cell lipids in patients with
acanthocytosis.
J. Lab. Clin. Med. 59, 357 - 363 (1962)

PHILLIPS, G.B.; N.S. ROOME

Quantitative chromatographic analysis of the
phospholipids of abnormal human red blood cells.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 109, 360 - 364 (1962)

POLLI, E.; G. RATTI

Studien über Leukocyten
I. Mitteilung: Die Fettfraktionen in intakten
Zellen und in isolierten Zellkernen bei normalen
und pathologischen Zuständen.
Biochem. Zschr. 323, 546 - 554 (1953)

POLONOVSKI, J.; M. PAYSANT

Metabolisme phospholipidique du sang
VIII. Echange des phospholipides marqués entre
globules et plasma sanguin in vitro.
Bull. Soc. Chim. Biol. (Paris) 45, 339 - 347 (1963)

RADERECHT, H.J.; E. SCHÖLZEL; S.M. RAPOPORT

Über das Verhalten der Lipide bei der Reifung
und Konservierung von Blutzellen.
Klin. Wschr. 38, 824 - 825 (1960)

REED, C.F.; E.G. EDEN; S.N. SWISHER

Studies of the lipids of normal and stored
human red cells.
J. Clin. Res. 6, 186 - 192 (1958)

REED, C.F.;

Studies of in vivo and in vitro exchange of erythrocyte and plasma phospholipids.
J. Clin. Invest. 38, 1032 - 1033 (1959)

REED, C.F.; S.N. SWISHER; G.V. MARINETTI; E.G. EDEN

Studies of the lipids of the erythrocyte.
I. Quantitative analysis of the lipids of normal human red blood cells.
J. Lab. Clin. Med. 56, 281 - 289 (1960)

REED, C.F.; S.N. SWISHER

Erythrocyte lipid loss in hereditary spherocytosis.
J. Clin. Invest. 45, 777 - 781 (1966)

RIMON, S.; F. BROK; A. RIMON

Changes in erythrocyte lipids during storage.
Clin. Chim. Acta 12, 22 - 26 (1967)

ROBERTSON, A.F.; W.E.M. LANDS

Metabolism of phospholipids in normal and spherocytic human erythrocytes.
J. Lipid Res. 5, 88 - 93 (1964)

ROWE, C.E.

The biosynthesis of phospholipids by human blood cells.
Biochem. J. 73, 438 - 442 (1959)

ROWE, C.E.; A.C. ALLISON; J.E. LOVELOCK

Synthesis of lipids by different human blood cell types.
Biochim. Biophys. Acta 41, 310 - 314 (1960)

RUBIN, S.H.

The plasma and red blood cell lipids in persistent (diabetic) lipemia and in transient (alimentary) lipemia.
J. Biol. Chem. 131, 691 - 702 (1939)

RUHENSTROTH - BAUER, G.

Über den Austausch zwischen dem Cholesterin der Erythrocytenoberfläche und dem Cholesterin des Blutplasmas.

Zschr. exper. Med. 121, 475 - 479 (1953)

SAKAGAMI, T.; O. MIJARI; T. ORII

Interaction of individual phospholipids between rat plasma and erythrocytes in vitro.

Biochim. Biophys. Acta 98, 356 - 364 (1965)

SCHÖNHEIMER, R.; W.M. SPERRY

A micromethod for the determination of free and combined cholesterol.

J. Biol. Chem. 106, 745 - 760 (1934)

SCHWANDT, P.; J. BIRK, H. ERHART

Lipide in isolierten menschlichen Leukocyten.

Klin. Wschr. 45, 1008 - 1010 (1967)

SLOVITER, H.A.; S. TANAKA

Lipids of butanol-treated erythrocytes.

J. Cell. Comp. Physiol. 63, 261 - 266 (1964)

SZEINBERG, A.; J. ZAIDMAN; L. CLEJAN

Investigation of the lipid content of normal and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient red cells.

Biochim. Biophys. Acta 98, 598 - 606 (1965)

SPERRY, W.M.

Lipid analysis.

in GLICK, D.: Methods of biochemical analysis Vol. 2, pp 83 - 111, Interscience Publ.

New York - London (1955)

THIELE, O.W.; H. BERGMANN

Über die papierchromatographische Trennung von Plasmalogenen und freiem Plasmal.

Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chem. 306, 185 - 194 (1957)

THIELE, O.W.; W. WOBER

Zur papierchromatographischen Trennung von Phosphatiden auf einem neuartigen Kieselgel-papier.

Hoppe-Seyler's Zschr. physiol. Chem. 326, 89 - 92 (1961)

WATSON, W.C.

The morphology and lipid composition of the erythrocytes in normal and essential-fatty-acid-deficient rats.

Brit. J. Haemat. 9, 32 - 38 (1963)

WAYS, P.; C.F. REED; D.J. HANAHAN

Red cell and plasma lipids in acanthocytosis. J. Clin. Invest. 42, 1248 - 1260 (1963)

WAYS, P.; D.J. HANAHAN

Characterization and quantification of red cell lipids in normal man.

J. Lipid Res. 5, 318 - 328 (1964)

WEED, R.I.; C.F. REED

Membrane alterations leading to red cell destruction. Amer. J. Med. 41, 681 - 698 (1966)

WELLER, H.

Klinische Bedeutung und Bestimmung von Blutlipiden, insbesondere kritische Betrachtung der Cholesterinbestimmungen.

Röntgen. Lab. Prax. 15, L 50 - 72 (1962)

WESTERMAN, M.P.; L.E. PIERCE; W.N. JENSEN

Erythrocyte lipids: A comparison of normal young and normal old population.

J. Lab. Clin. Med. 62, 394 - 400 (1963)

WILLIAMS, H.H.; B.N. ERICKSON; S. BERNSTEIN; F.C. HUMMEL; I.G. MACY

Lipid and mineral distribution of serum and erythrocytes in pernicious anemia before and after therapy.

J. Biol. Chem. 118, 599 - 617 (1937)

WOOLDRIDGE, L.

Zur Chemie der Blutkörperchen.

Arch. Anat., Physiol. Abt., 387 - 411 (1881)

YAMAKAWA, T.; S. SUZUKI

The chemistry of the lipides of posthemolytic residue or stroma of erythrocytes.

I. Concerning the ether insoluble lipides of lyophilized horse blood stroma.

J. Biochem. (Tokyo) 38, 199 - 212 (1951)

YAMAKAWA, T.; S. SUZUKI

The chemistry of the lipides of posthemolytic residue or stroma of erythrocytes.

IV. Distribution of lipide hexosamine and lipide hemataminic acid in the red blood corpuscles of various species of animals.

J. Biochem. (Tokyo) 40, 7 - 10 (1953)

ZÖLLNER, N.; K. KIRSCH

Die säulenchromatographische Trennung der Plasmalipoide.

I. Mitteilung: Methodik und Identifizierung der Fraktionen.

Zschr. exper. Med. 134, 10 - 28 (1960)

ZÖLLNER, N.; D. EBERHAGEN (Hrsg.)

Untersuchung und Bestimmung der Lipide im Blut.

Springer-Verlag Berlin - Heidelberg - New York (1965)

L e b e n s l a u f

Am 14.März 1940 wurde ich, Thomas Christian Lennert, als zweites von vier Kindern des jetzigen Universitätsprofessors Dr.phil. Rudolf Lennert und seiner Ehefrau Dr.phil. Annemarie Lennert, geb. Neumeister, in Stettin geboren. Die Grundschule besuchte ich in Rotenburg bei Bremen, Göhrde/Kreis Dannenberg und Lüneburg. Anschließend besuchte ich den altsprachlichen Zweig des Gymnasiums in Lüneburg und des Arndt-Gymnasiums in Berlin-Dahlem, wo ich am 4.März 1959 die Reifeprüfung ablegte. Ich studierte danach Humanmedizin an der Freien Universität Berlin, an der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i. Br. und am University College Galway der National University of Ireland. Die Ärztliche Vorprüfung bestand ich in Berlin am 6.11.1961 und die Ärztliche Prüfung in Berlin am 3.12.1965. Danach arbeitete ich zunächst im Stoffwechsel-labor der I. Medizinischen Klinik der Freien Universität Berlin an meiner Dissertation, anschließend war ich an derselben Klinik zehn Monate als Medizinalassistent tätig. Weitere drei Monate arbeitete ich am Strahleninstitut der Freien Universität Berlin und vier Monate an der Chirurgischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses Berlin-Wannsee. Zur Zeit bin ich als Medizinalassistent an der Kinderklinik der Freien Universität Berlin.

Seit dem 8.10.1965 bin ich mit der Lehrerin Gudula Lennert, geb. Thomas, verheiratet.

